

Lehrstuhl für Urologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen
(Prof. Dr. C. F. Rothauge)

Experimentelle Untersuchungen zur Nierenkonservierung

Habilitationsschrift
an der Medizinischen Fakultät der
Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

Kurt Ruile

aus

Regensburg

1972

Lehrstuhl für Urologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen
(Prof. Dr. C. F. Rothauge)

Experimentelle Untersuchungen zur Nierenkonservierung

Habilitationsschrift
an der Medizinischen Fakultät der
Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

Kurt Ruile

aus

Regensburg

1972

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. Hj. Staudinger
Referent: Prof. Dr. med. C. F. Rothauge
Korreferent: Prof. Dr. med. R. Pichlmayr

I.	Vorwort	1
II.	Möglichkeiten und Probleme der Organisationsentwicklung	3
III.	Ansatzpunkte zum Organisationsentwurf der "Hess-Leser-Verlag" und insbesondere des "Hess-Leser-Verlag"	5
IV.	Organisationsentwicklung	11
V.	Struktur	12
1.	Einleitung	12
2.	Verfahren	13
3.	Struktur	14
4.	Transaktionskosten	15
5.	Einleitung	16
6.	Struktur	17
7.	Einleitung	18
8.	Struktur	19
9.	Einleitung	20
10.	Struktur	21
11.	Einleitung	22
12.	Struktur	23
13.	Einleitung	24
14.	Struktur	25
15.	Einleitung	26
16.	Struktur	27
17.	Einleitung	28
18.	Struktur	29
19.	Einleitung	30
20.	Struktur	31
21.	Einleitung	32
22.	Struktur	33
23.	Einleitung	34
24.	Struktur	35
25.	Einleitung	36
26.	Struktur	37
27.	Einleitung	38
28.	Struktur	39
29.	Einleitung	40
30.	Struktur	41
31.	Einleitung	42
32.	Struktur	43
33.	Einleitung	44
34.	Struktur	45
35.	Einleitung	46
36.	Struktur	47
37.	Einleitung	48
38.	Struktur	49
39.	Einleitung	50
40.	Struktur	51
41.	Einleitung	52
42.	Struktur	53
43.	Einleitung	54
44.	Struktur	55
45.	Einleitung	56
46.	Struktur	57
47.	Einleitung	58
48.	Struktur	59
49.	Einleitung	60
50.	Struktur	61
51.	Einleitung	62
52.	Struktur	63
53.	Einleitung	64
54.	Struktur	65
55.	Einleitung	66
56.	Struktur	67
57.	Einleitung	68
58.	Struktur	69
59.	Einleitung	70
60.	Struktur	71

MEINEN ELTERN

UND

MEINER FRAU DORIS

GEWIDMET

UNIVERSITY OF LEIDEN
LIBRARY
DEPARTMENT OF THE HISTORY OF ARTS
LEIDEN



Inhaltsverzeichnis

I.	Einleitung	1
II.	Möglichkeiten und Probleme der Organkonservierung	1
III.	Anmerkungen zum Energiestoffwechsel der Niere unter normalen und ischaemischen Bedingungen	9
IV.	Problemstellung	11
V.	Methodik	12
	1. Entnahme	12
	2. Perfusion	13
	3. Konservierung	14
	4. Transplantation	17
	5. Herstellung der Halsnierenpräparate	18
	6. Entnahme und Konservierung des Nierengewebes für die Bestimmung der Adeninnukleotide	20
	7. Biochemische Aufarbeitung	23 a
	8. Histologische Untersuchungen	28
	9. Statistische Berechnung	28
VI.	Ergebnisse	31
	1. Adeninnukleotid-Konzentrationen unter verschiedenen Konservierungsbedingungen	31
	2. Ergebnisse nach autologer Transplantation von Xenon-konservierten Hundenieren	40
	3. Ergebnisse nach temporärer Rezirkulation Xenon-konservierter Hundenieren in Form eines sog. Halsnierenpräparates	49
VII.	Diskussion	58
VIII.	Zusammenfassung	64
IX.	Tabellenanhang	65
X.	Literaturverzeichnis	71

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

ADP	=	Adenosin-5' -di-phosphat
AN	=	Adennukleotide
AMP	=	Adenosin-5' -mono-phosphat
ATP	=	Adenosin-5' -tri-phosphat
GAPDH	=	Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase
LDH	=	Laktat-Dehydrogenase
MK	=	Myokinase
NAD	=	Nikotinamid-adenin-dinukleotid
PEP	=	Phospho enolpyruvat
PGK	=	Phosphoglycerat-Kinase
PK	=	Pyruvat-Kinase

I. Einleitung

Der Gedanke, einzelne Zellen, Gewebe und schließlich ganze Organe isoliert über längere Zeit zu konservieren, beansprucht bereits seit vielen Jahren das Interesse wissenschaftlicher Forschung. Doch erst die jüngsten Erfolge der klinischen Organtransplantation forderten zwingend die Entwicklung geeigneter Konservierungsverfahren.

Unter dem Begriff Organkonservierung versteht man heute die extrakorporale Aufbewahrung eines Organs in einem vollständig künstlichem System (LARGIADER). Zweck der Konservierung ist die Erhaltung der Vitalität eines Organs in der Zeitspanne zwischen Entnahme und Wiederanschluß an den Kreislauf des Empfängers. Die ersten Bemühungen in der Entwicklung von Konservierungstechniken waren zunächst darauf gerichtet, diese Zeitspanne zumindest soweit auszudehnen, daß eine normale präoperative Vorbereitung des Empfängers, eine immunbiologische Selektion sowie ein evtl. Organtransport durchführbar sind. Das Fernziel der Konservierungsforschung ist zweifellos in der Einrichtung von "Organbanken" zu sehen, die eine Langzeitkonservierung ganzer Organe, wie z.B. Niere, Leber, Herz oder Lunge ermöglichen.

Ein Organ bleibt solange vital, wie es in der Lage ist, seinen durch die Erhaltung der Struktur bedingten Stoffwechselanforderungen gerecht zu werden. Daraus leiten sich grundsätzlich zwei Wege einer Konservierungsmöglichkeit ab, nämlich entweder die Stoffwechselanforderungen zu senken und damit die Ischaemietoleranz zu verbessern oder den durch die Ischaemie bedingten Mangel an Sauerstoff, Substrat und dergl. zu ersetzen.

II. Möglichkeiten und Probleme der Organkonservierung

Zu den Methoden, welche über eine Beeinflussung der Ischaemietoleranz die Wiederstandsfähigkeit eines Organes erhöhen, zählen

- die Hypothermie,
- das Gefrieren,
- die Anwendung von Überdruck,
- die pharmakologische Beeinflussung.

Die künstliche Sauerstoff- und Substratzufuhr sowie der Schlackenabtransport werden durch die Anwendung verschiedener Perfusionstechniken möglich. Verwendung fanden bisher

die maschinelle Perfusion isolierter Organe,
die ex-vivo-Perfusion,
die Perfusion unter Benutzung eines
Zwischenwirts.

Häufig werden diese Verfahren miteinander kombiniert.

Die Hypothermie ist die älteste und einfachste Konservierungsmethode (BOGARDUS, HERRMANN, KISER, MURRAY, STEVENS, VAHLENSIECK).

Die Herabsetzung der Temperatur drosselt sämtliche Stoffwechselvorgänge, reduziert den Sauerstoffbedarf und vermindert die Anhäufung von Stoffwechselschlacken. Der Sauerstoffverbrauch des Gewebes nimmt in Hypothermie exponentiell ab. Nach LEVY beträgt der Sauerstoffverbrauch bei 20 ° C noch 16 % und fällt bei 10 ° C auf 4 - 5 % ab. Dies zeigt, daß auch bei nur mäßiger Hypothermie bereits eine erhebliche Drosselung des Stoffwechsels erfolgt. In der technischen Anwendung wird die einfache Oberflächenunterkühlung zweckmäßig durch eine Perfusionsunterkühlung ergänzt. Mit einer Kühlperfusion wird vor allem eine rasche Kühlung des Organkerns und damit eine Verkürzung der sogenannten "warmen Ischaemiezeit" erreicht. Eine erfolgreiche Konservierung der Niere mit alleiniger Hypothermie ist derzeit über eine Zeitspanne von 6 - 10 Std. möglich (HUMPHRIES, LARGIADER, VAN ELK). Es muß allerdings eingeräumt werden, daß in Einzelfällen eine erfolgreiche hypotherme Nierenkonservierung über 24 Stunden erzielt wurde (LAPCHINSKY, PEGG).

Die logische Weiterführung der hypothermen Organkonservierung ist im Gefrieren von Geweben oder Organen zu sehen (ABOTT, HALASZ, JACOB, RUDOLF, SCHIMMEL). Bei Temperaturen unter - 100 ° C ist eine totale Arretierung aller Stoffwechselprozesse anzunehmen. Biophysikalische Probleme, insbesondere die intrazelluläre Eisbildung (MAZUR), außerdem die technischen Schwierigkeiten, ein Organ rasch und gleichmäßig abzukühlen und wieder aufzutauen verhinderten bisher noch jeden Erfolg.

Kryoprotektive Substanzen, wie Glycerol und Dimethylsulfoxyd, haben zwar das Einfrieren von Sperma (SHERMANN), Haut (LEHR), Erythrozyten und sogar fetaler Nierenzellsuspensionen ermöglicht (PERRY). Die Toxizität dieser Substanzen in wirksamen Konzentrationen limitierte jedoch ihre Anwendung bei der Konservierung ganzer Organe. Ebenso waren Versuche mit extrem hohen Drucken, die eine Eiskristallbildung verhindern sollten, wie auch die Anwendung der Gefriertrocknung erfolglos.

Zusammen mit POPPERT, BRAUN und VOSS haben wir Hundenieren bei -35°C unter Xenon-Überdruck bei 5 atü über 10 Tage konserviert. Es fanden sich dabei zwar erhebliche Unterschiede in der Morphologie und am Verhalten nach Rezirkulation gegenüber den ohne Konservierung eingefrorenen Organen, die Erhaltung vitaler Organe war jedoch nicht möglich.

Im Hinblick auf eine Langzeitkonservierung ganzer Organe erscheint die weitere Entwicklung der Gefriertechnik jedoch trotzdem aussichtsreich.

Hyperbare Organkonservierung. Überdruck beschleunigt die Diffusion eines gasförmigen Mediums ins Gewebe. MANAX berichtete 1964 über die Anwendung einer hyperbaren Oxygenation in Kombination mit Hypothermie zur Nierenkonservierung. In der Folgezeit erschienen eine Reihe von experimentellen Beiträgen zu diesem Prinzip (BASSO, HENDRY, HITCHCOCK, LARGIADER, LEMPERT, NASBETH, RUDOLF). Die Leistungsfähigkeit einer hyperbaren Konservierung hängt sehr wesentlich von der Eindringgeschwindigkeit des Mediums und von der Gewebsdicke des betreffenden Organs ab. Die Eindringgeschwindigkeit ist wiederum vom Gasdruck, von der Temperatur und vom Permeationskoeffizient des jeweiligen Gewebes bestimmt (LARGIADER). Über welchen Mechanismus durch Anwendung von Überdruck ein Konservierungseffekt erzielt wird, ist keineswegs ausreichend geklärt. Es scheint festzustehen, daß - vor allem in Verbindung mit der Hypothermie - sowohl das Medium wie auch der Druck für sich allein einen Effekt ausübt. So tolerieren nach LADAGA Nieren einen Überdruck bis 30 atü ohne Beeinträchtigung des Konservierungsergebnisses. Nach CREE nahmen Hundenieren, die über 2 Stunden einem Druck von 133 atm ausgesetzt waren, ihre Funktion nach Transplantation im vollen Umfange wieder auf. Sauerstoff wirkt andererseits unter höherem Druck möglicherweise gewebstoxisch (ABOTT, ALLISON). LADAGA fand bei hyperbarer Oxygenation über 10 atm keine Verbesserung der Konservierungsergebnisse, während

sich bei RUDOLF und MANDEL Sauerstoff zwischen 8 - 15 atm als schädlich erwies. Diese mögliche Toxizität des Sauerstoffs kann jedoch umgekehrt über eine Stoffwechselhemmung durch Inaktivierung der Pyruvatoxydase und von Enzymen, die Sulfhydrylgruppen enthalten, einen Konservierungseffekt bewirken (DICKENS, HAUGAARD, LYONS).

Zellschwellung und Ödem sind häufige Befunde einer unzureichenden Organkonservierung. Die Möglichkeit, diese Veränderungen durch Anwendung von Überdruck hintanzuhalten, wurden immer wieder diskutiert (SELL). Unter Anwendung inerter Gase bei ansteigendem Druck und gleichzeitiger Hypothermie konnten RUDOLF und MANDEL eine Verlängerung der Konservierungszeit registrieren. Wir führten zusammen mit VOSS, RICKART, SCHOEN und KUNZ in ähnlicher Weise Versuche an Kaninchennieren durch, wobei die Organe verschiedenen gasförmigen Medien und differenten Drucken über eine Konservierungsperiode von 8 Tagen bei 20° C ausgesetzt wurden. Als Parameter diente uns dabei das Verhalten der Adeninnukleotide (Tab. 1). Unter hyperbaren Bedingungen registrierten wir eine Zunahme der Nukleotide mit ansteigendem Druck bei allen inerten Gasen und eine Abnahme derselben bei Sauerstoffpreservation. Am wirksamsten erwies sich uns die Anwendung von Xenon-Überdruck (2 atü). Aber auch die Anwendung von Stickstoff (2,7 atü) und Helium (3,0 atü) ergab in bezug auf die AMP-Werte und den Gesamt-AN-Bestand gute Ergebnisse.

Nach diesen Untersuchungen besteht bei der hyperbaren Organkonservierung unter dem Blickwinkel des Verhaltens der Adeninnukleotide sowohl ein mediumspezifischer Effekt wie eine Druckabhängigkeit.

Tabelle Nr. 1

Adeninnukleotidgehalte in Kaninchennieren bei verschiedenen Gasen und Drucken nach 8 Tagen Konservierung bei 20° C.
Angaben der Mittelwerte in nMol/g Trockengewicht.

Gas	Druck	ATP	ADP	AMP	Gesamt-AN
Sauerstoff	0,4 atü	94,8	462,7	1266,3	1823,8
Sauerstoff	3,0 atü	48,1	280,3	650,7	979,1
Sauerstoff	6,5 atü	70,5	359,3	605,5	1035,3
Stickstoff	0,4 atü	50,4	399,4	1266,9	1716,7
Stickstoff	2,7 atü	206,2	665,4	2254,9	3126,5
Stickstoff	7,0 atü	644,8	752,6	779,2	2176,6
Helium	0,4 atü	54,4	392,5	1390,0	1836,9
Helium	3,0 atü	38,1	498,5	2106,5	2643,1
Xenon	2,0 atü	614,6	1089,8	2178,1	3882,5

Anmerkung : In einer früheren Publikation (Verh. Dtsch. Ges. Path. 54, 145 - 150, 1970) wurden die AMP-Werte doppelt so hoch angegeben. Die aus einem Doppelansatz resultierenden Meßwerte wurden in obiger Tabelle auf die Realwerte umgerechnet.

Pharmakologische Möglichkeiten in der Organkonservierung.

Der konservierende Effekt einzelner Pharmaka wird auf eine Hemmung des Stoffwechsels oder auf eine Membranstabilisierung zurückgeführt. Stoffwechselhemmend wirken:

Chlorpromazin, Natriumfluorid, Thiouracil, Magnesiumsulfat, Endojodin.

Membranstabilisierende Eigenschaften werden den folgenden Substanzen zugeschrieben:

Chloroquin, Chlorpromazin, Corticosteroide, Dipyridamol.

Die letztgenannte Gruppe wurde eingesetzt, um die hypoxische Schädigung der Zellmembran während der Konservierung zu vermindern. Insbesondere scheint der Austritt lysosomaler Enzyme (saure Hydrolasen) und die Zellschwellung infolge einer erhöhten Membrandurchlässigkeit beeinflussbar (WEISSMANN).

Antithyreoid Substanzen, wie z.B. Thiouracil und Endojodin, drosseln den Stoffwechsel unter Reduzierung des Sauerstoffverbrauchs (REID). Magnesium scheint die Laktatanreicherung zu bremsen, es wirkt als Katalysator vieler enzymatischer Vorgänge im intermediären Stoffwechsel und hat darüberhinaus ebenfalls membranstabilisierende Wirkung im Sinne der Aufrechterhaltung eines Membranpotentials (WATKINS, WEBB). Eine optimale Magnesiumkonzentration ist für die Funktion und Strukturerhaltung des ATP in gleicher Weise notwendig (WELT). Phenothiazine, insbesondere aber das Chlorpromazin (EYAL) haben einen hemmenden Effekt auf die den Stoffwechsel steuernden Enzyme. Es verhindert die Degeneration der Mitochondrien und den Austritt lysosomaler Enzyme.

In früheren Untersuchungen zusammen mit VOSS, haben wir versucht, eine pharmakologische Beeinflussung der Ischaemietoleranz durch Verabreichung von Endojodin und Dipyridamol (Persantin[®]) zu erreichen. Es gelang dabei, an der ischaemischen Hundeniere eine signifikante Erhöhung des Gehaltes an energiereichen Phosphaten nachzuweisen. Dem Endojodin fällt dabei ein stoffwechseldrosselnder Effekt, dem Persantin eine membranstabilisierende Wirkung zu.

Wenngleich jede dieser Substanzen eine gewisse organkonservierende Wirkung hat, so ist doch allein auf pharmakologischem Weg derzeit eine effektive Organkonservierung nicht möglich. Zur pharmakologischen Unterstützung und Verbesserung der gebräuchlichen Konservierungsfahren sind sie von wesentlicher Bedeutung.

Die Organperfusion wird als Methode der Grundlagenforschung in der experimentellen Medizin seit Jahrzehnten angewandt. In den letzten Jahren wurde dieses Verfahren in zunehmenden Maße für die Organkonservierung eingesetzt, da es die Zufuhr von Sauerstoff, Substrat und Pharmaka, den Abtransport von Stoffwechselschlacken ermöglicht und die gleichzeitige Anwendung von Hypothermie und Überdruck in vielfältiger und vielversprechender Weise kombinieren läßt.

Zum Problem der Organkonservierung mit maschineller Dauerperfusion eines isolierten Organs liegen zahlreiche Veröffentlichungen vor (BELZER, COUCH, HUMPHRIES, MANAX, STEVENS).

In dem Bestreben, die in-vivo Bedingungen exakt zu kopieren und eine adäquate Sauerstoffversorgung des Organs zu erzielen, perfundierte man anfänglich mit Blut bei normaler Körpertemperatur. Die extrakorporale Perfusion erwies sich bald als außerordentlich unphysiologisches System. Der zur ausreichenden Sauerstoffversorgung notwendige hohe Flow führte unvermeidlich zu einer mechanischen Schädigung der korpuskulären Bestandteile und damit zum Mißlingen einer kontinuierlichen Perfusion. Ein geringerer Durchfluß ist anwendbar, wenn der Sauerstoffbedarf des Gewebes künstlich durch Hypothermie gesenkt wird. Der dabei zunehmenden Viskosität des Blutes konnte man durch Verdünnung begegnen. Weiter Schwierigkeiten boten die veränderte Sauerstoffbindung des Hämoglobins in Hypothermie und die erhöhte Vasokonstriktion.

Die bessere physikalische Löslichkeit des Sauerstoffs bei niederen Temperaturen und der verringerte Sauerstoffbedarf in Hypothermie ermöglichen eine ausreichende Oxygenierung des Gewebes auch mit hämoglobinfreien Perfusaten. So konnte HUMPHRIES Hundenieren mit verdünntem Plasma über drei Tage perfundieren und erfolgreich transplantieren. Die Denaturierung von Proteinen und Lipoproteinen, die nach längerer Perfusion zu beobachten ist, konnte durch Anwendung von Membranoxygenatoren und einer pulsatischen Perfusion verringert werden. Insbesondere in Hypothermie kommt es zum Ausfall instabiler Lipoproteine unter Bildung von Fettemboli. Durch eine vorausgehende Kryoprezipitation können die instabilen Lipoproteine abgetrennt und durch Filtern des Plasmas

eliminiert werden (BELZER). Unter diesen Bedingungen gelang es BELZER, Hundenieren über 72 Stunden isoliert zu perfundieren und bei gleichzeitiger kontralateraler Nephrektomie erfolgreich zu transplantieren. 1970 konnte er bereits über 63 klinische Fälle berichten, bei welchen Leihennieren 4 1/2 bis 50 Stunden maschinell perfundiert und mit Erfolg transplantiert wurden. Dieses Verfahren hat unter allen bisher klinisch angewandten Konservierungstechniken die besten Ergebnisse gebracht.

Die ex-vivo-Perfusion, d.h. die Durchströmung eines isolierten extrakorporalen Organs durch Verbinden desselben mit dem Kreislauf eines lebenden Organismus, hat ebenso wie die Zwischenwirt-Technik bisher nur experimentelle Bedeutung erlangt. Unter Verwendung einer an einen Scribnershunt angeschlossenen Perfusionskammer konnte LAVENDER menschliche Nieren extrakorporal über 25 Tage funktionstüchtig erhalten.

Mit der Benutzung eines Zwischenwirts war es möglich, Hundenieren 5 Tage (ACKERMANN) und Affennieren 7 Tage erfolgreich zu konservieren. In ähnlicher Weise hat man versucht, menschliche Niere auf Primaten zu verpflanzen. Der massiven Abstoßungsreaktion konnte man nicht einmal mit subletalen Bestrahlungsdosen begegnen. Als klinische Konservierungsverfahren scheiden diese Techniken wegen der ungelösten immunbiologischen Probleme und wegen der hohen technischen Komplikationsrate bislang aus.

Anoxische Konservierungsversuche. Der Erfolg einer Organkonservierung ist von der Wiederbelebungszeit und damit von der Ischaemietoleranz eines Organs abhängig. Es erscheint deshalb möglich, über eine künstliche Verlängerung der Ischaemietoleranzzeit ein Organ ohne weitere Sauerstoffzufuhr vital zu erhalten. Der Stoffwechsel eines isolierten Organs müßte dabei so weitgehend blockiert werden, daß mit den organeigenen Energie- und Substratreserven, reduziert auf einen minimalen Basisstoffwechsel der Zellstruktur, über längere Zeit ein potentiell funktionsbereiter Zustand aufrechterhalten werden kann.

Untersuchungen von LYONS zeigten, daß Sauerstoff offensichtlich über einen begrenzten Zeitraum nicht unabdingbar für die Aufrechterhaltung der Lebensfähigkeit

eines Organs ist. Er konnte nachweisen, daß anoxisch unter inerten Gasen wie Stickstoff und Helium hyperbar gelagerte Herzen ihre Vitalität behielten, nach 24 Stunden Konservierung transplantiert werden konnten und wieder zu schlagen begannen.

VAN ZYL und Mitarbeiter untersuchten Stoffwechsel und Funktion isolierter Affennieren nach prolongierter, blutfreier, hyperbarer und hypothermer Konservierung unter Sauerstoff und Helium. Nieren, die 24 Stunden unter Helium anoxisch konserviert wurden, wiesen anschließend wieder eine Natrium-Rückresorption auf und zeigten einen deutlichen Sauerstoffverbrauch. Am besten erwies sich bei diesen Untersuchungen - insbesondere in Bezug auf den Kohlehydratstoffwechsel - eine Kombination von 95 % Helium und 5 % Sauerstoff. Die nachfolgend beschriebenen Untersuchungen befassen sich ebenfalls mit der Möglichkeit einer anoxischen Konservierung im Edelgasmilieu unter hypothermen und hyperbaren Bedingungen.

III. Anmerkungen zum Energiestoffwechsel der Niere unter normalen und ischaemischen Bedingungen

In der Zelle muß kontinuierlich Energie verfügbar sein, um vitale Funktionen wie die Protein- und Makromolekülsynthese und die Aufrechterhaltung des chemischen Milieus zu gewährleisten (COHEN und FOLKMAN). Neben diesem Stoffwechsel zur Strukturhaltung hat die Niere einen ganz erheblichen Energiebedarf aus den Aufgaben des Funktionsstoffwechsels. Es handelt sich bei diesen energieverbrauchenden Prozessen besonders um die aktiven Transportmechanismen der Niere - wie Rückresorption von Glukose, Eiweiß und Aminosäuren und Rücknahme des Natriums aus dem Primärharn -, die vor allem im proximalen Tubulusteil stattfinden. Insgesamt besteht der Energieverbrauch der Niere für den Funktionsstoffwechsel in der Aufrechterhaltung des Konzentrationsunterschiedes zwischen Primärharn und Endharn.

Die Energieträger für diese energieverbrauchenden Prozesse sind im wesentlichen die energiereichen Verbindungen des Adenylatsystems, insbesondere das ATP. Die erforderliche Energie wird durch Spaltung des ATP unter Mitwirkung der ATPase freigesetzt. Das ATPase-System spielt eine entscheidende Rolle im aktiven Kationentransport (KIL). Als Ausdruck eines intensiven Energiestoffwechsels finden sich die höchsten ATPase Aktivitäten neben der grauen Substanz des ZNS und der Retina im Bereich der Niere, und zwar an der Zellmembran der Tubulusepithelien (BONTING). Dieser Befund entspricht auch der hohen Umsatzgeschwindigkeit energiereicher Phosphate in der Niere im Vergleich zu anderen Organen.

Guanin- und Uridinnukleotide spielen mit ca. 10 % der gesamten Nukleotide in der Niere eine untergeordnete Rolle. Das in anderen Organen als Energiespeicher wichtige Phosphokreatin läßt sich in der Niere nur in Spuren nachweisen. Annähernd 45 % der Energie, die aus der Glukose-Oxydierung stammt, wird in energiereiche Bindungen überführt und steht der Zelle zur Verfügung (WHITE). Im Gegensatz zum Gehirn, daß seinen Energiebedarf fast ausschließlich über die Glukose deckt (ERBLÖH, GOTTSTEIN), stellt die Glukoseutilisation nur den geringeren Teil des Energiebedarfs der Niere. BALINT räumt der Glukose noch eine sehr wesentliche Bedeutung im Nierenstoffwechsel ein; neueren Angaben von KIL

zufolge sind aber die freien Fettsäuren und das Laktat als die wichtigsten Substrate anzusehen. An Nierenschnitten wird die Glukose zwar verstoffwechselt (LEE), an der intakten Niere ist die Glukoseutilisation jedoch nicht exakt zu erfassen.

Unter anaeroben Bedingungen erfolgt die Energiegewinnung aus der Glukose über die anaerobe Glykose. Dabei werden jedoch nur 8 % der gesamten möglichen Energie freigesetzt, so daß die Zelle gleichsam zu einer weit weniger effektiven Energieproduktion gezwungen wird. Das Umschalten auf die anaeroben Glykolyse hat neben der verminderten Energieproduktion auch ein Absinken des pH-Wertes durch die vermehrte Milchsäureproduktion zur Folge, die wiederum die anaerobe Glykolyse limitiert und darüberhinaus die Sauerstoffaufnahme des Gewebes hemmt.

Das Verhalten der Adeninnukleotide unter Ischaemie wurde von DEUTICKE, GERLACH, THORN und VOSS untersucht. Unmittelbar nach Unterbrechung der Blutzufuhr kommt es zu einem rapiden Verlust an ATP und zu einer Anreicherung an Monophosphat. Diese Veränderungen vollziehen sich in den ersten Minuten und gehen parallel mit der Einstellung des Funktionsstoffwechsels der Niere. Der weitere Verlust an Adeninnukleotiden schreitet nur langsam fort. Die glykolytische Aktivität ist weit weniger intensiv als beispielsweise in Myokard und Gehirn. Bis zu 6 Std. Ischaemie ist eine relativ hohe AMP-Konzentration zu registrieren, dann wird das AMP über Inosin und Xanthin weiter abgebaut. Da die Resynthese des ATP von dem Gesamtbestand der noch vorhandenen Adeninnukleotide ausgeht, erscheint dieser Befund für die Erhaltung der Vitalität von großer Bedeutung. Elektronenoptische Untersuchungen an der ischaemischen Niere korrelieren gut mit diesen biochemischen Befunden; denn erst nach 6 Stunden Ischaemie finden sich stärkere morphologische Veränderungen (VOSS).

Struktur und Funktion der Zelle sind entscheidend vom Energiestoffwechsel abhängig. Deshalb stellt das Verhalten der energiereichen Phosphate als Parameter des Energiestoffwechsels eine sehr wichtige Orientierungsgröße dar. Die Beurteilung der Vitalität eines ischaemischen und noch mehr eines konservierten Organs ist am Verhalten der Adeninnukleotide gut möglich. Als Kriterium eines erfolgreichen Konservierungsverfahrens reicht dieser Parameter jedoch nicht aus; hierzu kann bislang nur die geglückte Transplantation des konservierten Organs herangezogen werden.

IV. Problemstellung

Bei früheren Untersuchungen zusammen mit VOSS, RICKART, VOGELL und KUNZ gelang es, an der Kaninchenniere unter den anoxischen Bedingungen einer hypothermen Xenon-Überdruckkonservierung (bei 2°C und 2 atü) eine signifikante Anhebung des ATP-Gehaltes und der Gesamt-Adeninnukleotide zu erzielen. Es stelle sich nun das Problem, diesen Effekt an größeren Organen nachzuprüfen und die Methodik den klinischen Gegebenheiten einer Organkonservierung und Transplantation anzupassen. Da wir bereits bei früheren Untersuchungen, zusammen mit VOSS, SCHOEN und WILDBERGER, Erfahrungen mit der Transplantation von Hundenieren gesammelt hatten, führten wir auch die nachfolgenden Untersuchungen an der Hundeniere durch.

Insbesondere sollte das Verhalten der Adeninnukleotide nach der notwendigen initialen Kühlperfusion und nach einem Konservierungszeitraum von 2 Tagen untersucht werden und die Nukleotidkonzentrationen unter Xenonüberdruckkonservierung mit denen nach einfacher hypothermer Luftaufbewahrung verglichen werden.

Ergänzend sollte geprüft werden, ob durch eine vorausgehende Durchperlung des Perfusats mit Xenon eine höhere Effektivität des Konservierungsverfahrens ermöglicht wird.

Es ist nicht bekannt, wie rasch das Edelgas unter Überdruck in das zu konservierende Organ eindringt und sich im Gewebe anreichert. Deshalb interessierten die Adeninnukleotidkonzentrationen in verschiedenen Gewebsschichten der Niere, um daraus einen möglicherweise unterschiedlichen Konservierungseffekt in Abhängigkeit von der Permeationsgeschwindigkeit des Konservierungsmediums aufzudecken.

Die Effektivität eines Organkonservierungsverfahrens wird letztlich nur durch eine geglückte Transplantation gesichert. Wir ergänzten deshalb die biochemischen Untersuchungen durch autologe Transplantationen der konservierten Hundenieren nach Konservierungsperioden zwischen 2 und 7 Tagen. Als kürzester Konservierungszeitraum wurde 2 Tage gewählt, da eine erfolgreiche Transplantation unter allein hypothermen Bedingungen für diesen Zeitraum nicht mehr möglich ist. Die Ergebnisse der Transplantationen wurden durch histologische Untersuchungen nach verschiedener Verweildauer der Organe ergänzt.

Um eine mögliche Frühfunktion zu prüfen und die morphologischen Veränderungen nach der Konservierung und nach erfolgter Rezirkulation zu erfassen, wurde eine Serie von sogenannten Halsnierenpräparaten untersucht.

Mit diesen Untersuchungen sollte ein Beitrag zur Entwicklung eines hyperbaren Edalgaskonservierungsverfahrens geleistet werden, das eine prolongierte, schonende und apparativ wenig aufwendige Organkonservierung erlaubt.

V. Methodik

1. Entnahme

Als Versuchstiere dienten Bastardhunde beiderlei Geschlechts mit einem Körpergewicht zwischen 19 und 28 kg. Die Hunde lebten unter gleichen äußeren Bedingungen und wurden mit standardisiertem Hundefertigfutter ernährt.

Zur Einleitung der Narkose erhielten die Tiere 0,2 ml/kg Körpergewicht Thalamonal. Nach Verabreichung von 3 ml Succinylchlorid wurden sie intubiert und mit einem Engström-Respirator beatmet (4 l Sauerstoff, 6 l Lachgas, 0,5 Vol. % Halothan). Während des Versuchs wurden intravenös 500 ml Ringer-Lösung verabreicht. Nach sorgfältiger Rasur und Reinigung der Bauchhaut wurde zunächst die linke Niere von einem Pararektalschnitt aus transperitoneal freigelegt. Unter schonender Präparation überprüften wir die Gefäßverhältnisse dahingehend, ob es sich um eine oder mehrere Nierenarterien handelte. Bei Doppelung oder sehr kurzem gemeinsamen Stamm der linken Nierenarterie wurde die rechte Niere freipräpariert und für das Experiment verwendet.

Erwies sich die Niere als geeignet, wurde der Harnleiter aufgesucht, etwa 10 cm unterhalb des Nierenbeckens durchtrennt und nach distal ligiert. Dann erfolgte die Isolierung der Nierenstielgefäße. Die Arterie wurde möglichst aortennah freipräpariert, die Nierenvene zur Vermeidung einer intermittierenden Stauung nachfolgend freigelegt. Die Gefäße wurden abgeklemmt und durchtrennt und das Organ herausgelöst. Unverzüglich wurde nun die Nierenarterie mit einem PVC-Katheter entsprechender Größe kanüliert und mit der Schwerkraftperfusion begonnen.

Das weitere Vorgehen unterschied sich je nach geplanter Konservierungsmethode und vorgesehenem Experiment (Transplantation, Halsnierenpräparat, biochemische Untersuchung). Die Gefäßstümpfe wurden mit Seide ligiert und die Bauchdecken schichtweise verschlossen.

2. Perfusion

In der klinischen Routine wie im Experiment hat sich die zumindest kurzzeitige Durchspülung von zur Transplantation vorgesehenen Organen als unumgänglich erwiesen. Durch die Perfusion werden Erythrocyten soweit wie möglich aus dem Transplantat herausgespült und damit Blutstasen und Aggregationen vermieden (WESSEL). Darüberhinaus kann bei Perfusion mit gekühlten Lösungen bereits eine geplante hypotherme Konservierung eingeleitet werden.

Untersuchungen von VAHLENSIECK zufolge dauert es bei bloßer Oberflächenkühlung (Kühlschrank, Eiswasserbehälter) bis zu 60 min, bevor eine Nierenkerntemperatur von $7,0^{\circ}\text{C}$ erreicht wird. Hingegen wurde dieser Wert bei Kühlperfusion bereits nach 10 bis 15 Minuten erzielt. Eigene Untersuchungen mit Thermosonden bestätigen diese Angaben.

Wir begannen unmittelbar nach der Organentnahme mit der Schwerkraftperfusion (Abb. 1). Die Perfusionsdauer betrug 30 min; je nach Kaliber der Nierenarterie und Organgröße schwankend ließ sich nach dieser Zeit eine Durchflußmenge von durchschnittlich 820 ml messen. Wir ergänzten die Perfusionsunterkühlung mit dem auf $6 - 8^{\circ}\text{C}$ gekühltem Perfusat dadurch, daß wir die Perfusion im Kühlschrank bei 6°C vornahmen. Bei den ohne Konservierung direkt zur Autotransplantation vorgesehenen Nieren beschränkten wir uns auf ein Durchspülen der Organe ohne Unterkühlung.

Als Basislösung für die Perfusion verwandten wir eine Elektrolytlösung, die als "Perfusionslösung Dr. Fresenius ¹⁾" im Handel ist (Tab. 2). Vor Perfusionsbeginn wurden der Basislösung noch einige Zusätze beigelegt, die der Tabelle 2 zu entnehmen sind.

Diese Perfusionslösung wurde in Anlehnung an Angaben von LARGIADER entwickelt; die Perfusionszusätze wurden von uns etwas modifiziert. Die Basis dieser Lösung stellt eine isotonische Salzlösung dar, der als hochmolekulare, nicht diffundierbare Komponente Dextran hinzugefügt ist. Durch den Dextranzusatz soll die Ödembildung hintangehalten werden.

1) Muster der Perfusionslösung Dr. Fresenius wurden uns freundlicherweise von der Fa. Dr. E. Fresenius KG, Bad Homburg v.d.H. zur Verfügung gestellt.

Ob die im Experiment bei höheren Dextranskonzentrationen beobachteten Glomerulumläsionen (PEGG) mit dem Dextran in Zusammenhang stehen, ist nicht sicher erwiesen. Die Zugabe von Heparin als Antikoagulans bedarf keiner weiteren Begründung. Als Substratangebot für während der Perfusion noch ablaufende Stoffwechselprozesse dienten Glukose und Calorose, sowie zur besseren Glukoseutilisation Altinsulin. Spasmolytika wie Novokain oder Prokain werden heute routinemäßig einer Perfusionslösung zugesetzt, um Vasospasmen zu verhindern und eine bessere und gleichmäßigere Perfusion zu erzielen. Das pH wurde mit Hilfe von Natriumbikarbonat auf einen Wert von 7,40 - 7,45 bei einer Temperatur der Lösung von 8° C eingestellt. Die Perfusion erfolgte bei normalem Luftdruck, bei einer Temperatur von 6-8° C und unter normaler Atmosphäre. Lediglich bei einigen Versuchen zur Bestimmung der Adeninnukleotide wurde unter einer Xenon-Atmosphäre perfundiert.

Tabelle Nr. 2

Zusammensetzung der Perfusionslösung Dr. Fresenius und der von uns verwandten Zusätze

	Basislösung		Zusätze
Natrium	140,0 mval	Heparin	2 ml
Kalium	7,0 mval	Altinsulin	8 I. E.
Calcium	5,0 mval	Calorose 5 %	40 ml
Magnesium	3,0 mval	Novokain 2 %	40 ml
Chlor	105,0 mval	Natriumbi-	
Glukose	2,0 g/l	karbonat 3 %	50 ml
Dextran	50,0 g/l		
Mannit	0,5 g/l		
Azetat	50,0 mval		

Die Zusätze wurden 950 ml der Basislösung beigelegt, die Temperatur betrug 6 - 8° C, das pH lag zwischen 7,40 und 7,45.

3. Konservierung

Nach Beendigung der initialen Schwerkraftperfusion (30 min) wurde das Organ in feuchte Kompressen gelagert und unter sterilen Bedingungen in einen Druckbehälter eingebracht. Der vorgekühlte Druckbehälter (Abb. 2) wurde gasdicht verschlossen

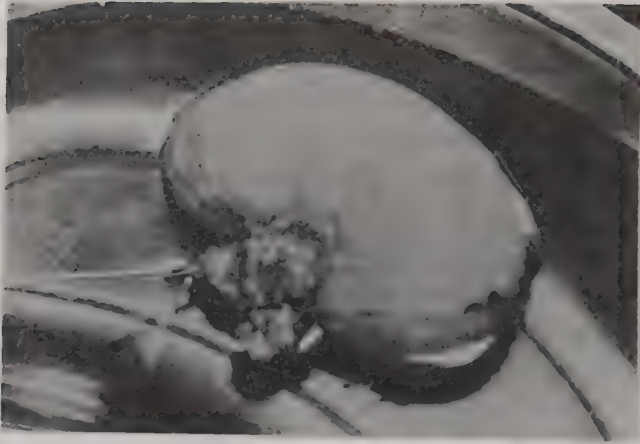


Abb. 1 Initiale Schwerkraftperfusion einer Hundeniere

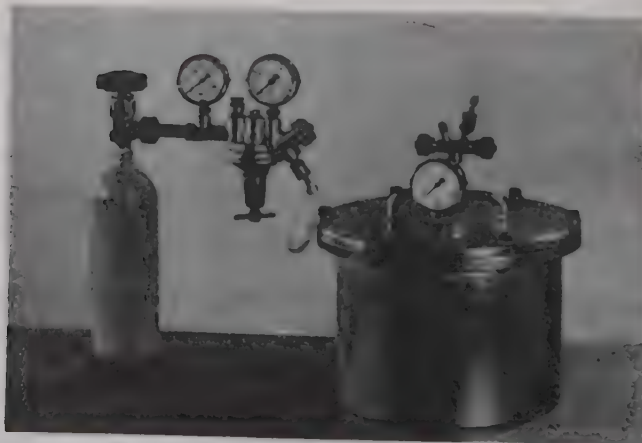


Abb. 2 Druckbehälter zur hyperbaren Gaskonservierung

und mit ebenfalls kühl gelagertem Xenon gefüllt. In den hier vorliegenden Versuchsreihen wurde durchweg ein Druck von 2 atü verwandt, um vergleichbare Bedingungen zu gewährleisten. Die Konservierungsdauer betrug im allgemeinen 48 Stunden, bei den Transplantationsversuchen wurden auch Konservierungszeiten von 3, 4, 5 und 7 Tagen untersucht. Der Druckbehälter wurde im Kühlschrank bei einer Temperatur von 6° C aufbewahrt. Nach Beendigung der Konservierungsperiode erfolgte eine langsame Dekompression durch stufenweises Ablassen des Xenons aus dem Druckbehälter (1 atü pro 15 min). Eine mechanische Läsion des Organs durch zu rapides Herausschleusen des Xenons aus dem Gewebe sollte dadurch vermieden werden. Die konservierten Nieren wurden nun einer neuerlichen Schwerkraftperfusion zugeführt, wobei wiederum die oben angegebene Perfusionslösung -allerdings bei Raumtemperatur - Verwendung fand. Die Perfusion kam im allgemeinen zunächst nur zögernd in Gang, bei zunehmender Perfusionsdauer verbesserte sich jedoch der Durchfluß und erreichte Durchschnittswerte von 440 ml/30 min.

Nach Beendigung der Perfusion erfolgte die Transplantation bzw. die biochemische Aufarbeitung des Organs. Entnahme, Perfusion und Konservierung erfolgten unter sterilen Bedingungen, um eine Beeinträchtigung der Versuchsergebnisse durch bakterielle Kontamination zu vermeiden.

4. Transplantation

Auswahl und Vorbereitung der Versuchstiere sowie Durchführung der Narkose wurden in gleicher Weise gehandhabt wie bei der Entnahme. Im Gegensatz zu früheren Untersuchungen wurden ausnahmslos autologe Nierentransplantationen vorgenommen, um eine Beeinflussung der Versuchsergebnisse durch immun - biologische Reaktionen zu vermeiden.

Die Transplantation der konservierten Niere erfolgte in allen Fällen in die kontralaterale Fossa iliaca (Abb.3). Die nachfolgend beschriebene Technik der Gefäßanastomosen hat sich uns bei früheren Untersuchungen (allerdings ipsilateral) zusammen mit VOSS, SCHOEN und WILDBERGER als am vorteilhaftesten erwiesen. Sie entspricht im wesentlichen der im Experiment wie bei der klinischen Transplantation heute üblichen Technik.

Die Hunde hatten im allgemeinen die 2 - 7 Tage vorher durchgeführte Entnahme gut toleriert, so daß der neuerliche Eingriff zwanglos durchgeführt werden konnte. Zur fortlaufenden Blutdruckregistrierung legten wir vor Operationsbeginn die kontralaterale A. femoralis frei und führten einen Katheder zur arteriellen Druckmessung ein. Dann wurde die Fossa iliaca von einem verlängerten Inguinalschnitt aus freigelegt und die Art. iliaca com. und die V. iliaca com. isoliert. Die arterielle Anastomose zwischen der Nierenarterie und Art. iliaca wurde End-zu-End mit atraumatischem Nahtmaterial (Mersilene 5 x 0) in der Weise vorgenommen, daß von zwei Eckfäden aus die Vorder- und Hinterwand jeweils zum anderen Eckfaden fortlaufend genäht wurden. Die venöse Anastomose wurde ebenfalls End-zu-End von vier atraumatischen Eckfäden aus durchgeführt, wobei jeweils fortlaufend bis zum nächsten Eckfaden genäht wurde. Eine sorgfältige Präparation der Gefäßstümpfe, eine den anatomischen Verhältnissen angepaßte Länge der Gefäßenden sowie die Vermeidung von Gefäßtorquierungen waren die Voraussetzungen für eine korrekte und gut funktionierende Anastomosentechnik. Von der früher von uns tierexperimentell angewandten mechanischen Gefäßanastomose nach Nakayama haben wir Abstand genommen, da es häufig im Bereich der Vene zu einer Einengung des Gefäßlumens und damit zu Zirkulationsstörungen kam.

Nach Freigabe der Durchblutung konnte mit der Einpflanzung des Harnleiters in die Blase begonnen werden. Dazu wurde die Blasenmuskulatur an einer geeigneten Stelle der lateralen Blasenwand stumpf präpariert, die Blaseschleimhaut freigelegt und indiziert.

Der angeschrägte Harnleiter wurde mit den Rändern der Blasenschleimhaut durch atraumatisches Catgut anastomosiert. Zur Vermeidung eines vesiko-ureteralen Reflux und zur Abdichtung der Anastomose wurde die Blasenmuskulatur einschichtig über dem Anastomosenbezirk vernäht. Auf eine Schienung der Anastomose wurde verzichtet. Nach sorgfältiger Blutstillung fixierten wir das transplantierte Organ meist mit einer Catnaht an der lateralen Bauchwand. Die Wunde wurde ohne Wundbettdrainage schichtweise verschlossen. Postoperativ erhielten die Tiere täglich 2 g Ampicillin.

5. Herstellung der Halsnierenpräparate

Die Untersuchungen an Halsnierenpräparaten dienten der Prüfung der Frühfunktion nach der Konservierungsperiode sowie der histologischen Untersuchung nach kurzzeitiger Rezirkulation (Abb. 4).

Wir nahmen auch in dieser Versuchsreihe nur autologe Transplantationen vor, um Abstoßungsreaktionen (vor allem die peracute Abstoßung unmittelbar nach Transplantation) auszuschließen.

Nach Vorbereitung der Halshaut erfolgte die Freilegung der Art. carotis und der V. jugularis. Den Hautschnitt legten wir beim Hund in das caudale Halsdrittel, parallel knapp neben der gut tastbaren Trachea. Die Skelettierung der Arterie erfolgte auf kurze Distanz von 2 - 3 cm, desgleichen die der Vene. Die sparsame Skelettierung soll während des Versuchs eine möglichst gute Versorgung der Arterien- und Venenwand gewährleisten und oberflächliche Trocknungsnekrosen verhindern. Zur Anastomosierung der Gefäße bedienten wir uns entweder der von REINHARDT beschriebenen Technik mit sog. Payr-Kanülen, oder wir verwandten Shuntteile, wie sie für die Etablierung eines Scribner-Shunts angewandt werden. Auf diese Weise war im allgemeinen eine rasche Restaurierung der Blutzirkulation möglich. Der Harnleiter wurde mit einem dünnen Katheter versehen, der in ein Auffanggefäß abgeleitet wurde.

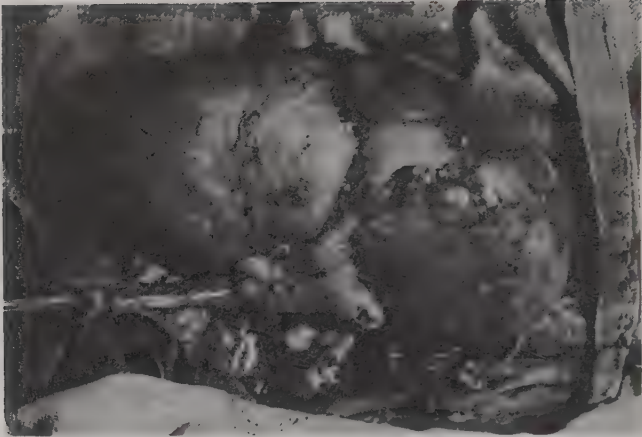


Abb. 3 Autologe Transplantation einer konservierten
Hundeniere in die Fossa iliaca



Abb. 4 Halsnierenpräparat unter Verwendung von
Scribnershunteilen

Das Organ wurde durch Auflegen von feuchten Kompressen vor Austrocknung geschützt. Durch Dekonnektieren des venösen Shuntteils bzw. durch Messen des venösen Ausflusses zum Ende des Versuchs konnte ein Hinweis auf die Durchflußmenge/min erhalten werden. Die Rezirkulationszeit betrug 30 - 180 min. Der Versuch wurde dann aus technischen Gründen abgebrochen oder willkürlich beendet. Das Organ wurde entfernt, die Halsgefäße ligiert und die Wunde verschlossen. Eine dauernde Einpflanzung von konservierten Nieren am Hals (Halsniere) haben wir nicht vorgenommen, da bei früheren derartigen Untersuchungen die Mehrzahl der Versuche durch Komplikationen der Ureter-Hautfistel mißglückten.

6. Entnahme und Konservierung des Nierengewebes für die Bestimmung der Adeninnukleotide

Eine Reihe von unter Xenon konservierten Hundenieren wurde mit unter Luft aufbewahrten Nieren zu gleichen Temperaturbedingungen und Konservierungsperioden verglichen und dabei die jeweiligen Adeninnukleotidkonzentrationen bestimmt. Die einzelnen Versuchsgruppen und ihre unterschiedlichen Bedingungen sind in Tab. 3 zusammengestellt.

Die Methodik der Entnahme und der Perfusion war die gleiche wie oben angegeben. Bei der Kontrollgruppe (Gruppe 1), bei der der Realgehalt der Hundenieren an Adeninnukleotiden (ohne Ischaemie) bestimmt werden sollte, erfolgte die Gewebsgewinnung in situ ohne Unterbrechung der Zirkulation. Die Technik der Entnahme spielt für diese Gruppe eine entscheidende Rolle, da der Abbau der Adeninnukleotide bereits in den ersten Sekunden der Ischaemie sehr lebhaft einsetzt (GERLACH, VOSS, WOLLENBERGER). Nach Freilegung der Niere wurde bei unbeeinträchtigter Zirkulation eine Keilexzision aus dem unteren Nierenpol vorgenommen. Das exzidierte Gewebsstück wurde unverzüglich in einen Rindenbezirk und einen Markbezirk geteilt und getrennt in flüssigen Stickstoff eingebracht. Eine weitere gezielte Unterteilung in einzelne Gewebsschichten war nicht durchführbar, um die Ischaemieperiode bis zum Gefrierstop nicht noch mehr zu verlängern. Die Entnahme mit einer Gefrierstopzange nach WOLLENBERGER in situ war wegen der Schichtunterteilung nicht möglich. In einer weiteren Versuchsgruppe (Gruppe 2) wurde deshalb auf die Schicht-

unterteilung verzichtet und das Gewebe nach dem Prinzip von WOLLEN-BERGER mit einer vorgekühlten Zange entnommen und sofort in flüssigen Stickstoff eingebracht.

Tabelle Nr. 3

Versuchsgruppen für die Bestimmungen der Adennukleotide

Gruppe Nr.	Anzahl	Konserv. dauer	Perfusat	Medium	Temp.	Druck	Schichtunter- teilung
1	7 - 10	0-15 sec	keines	Luft	Körper temp.	normal	Rinde/Mark
2	16	0 sec	keines	Luft	Körper temp.	normal	keine
3	6 - 7	30 min	Fresenius	Luft	6° C	normal	Rinde/Zw./Mark
4	7 - 8	30 min	Fresenius	Xenon	6° C	normal	Rinde/Zw./Mark
5	7 - 9	30 min	Fresenius durchperlt	Xenon	6° C	normal	Rinde/Zw./Mark
6	7 - 8	48 Std	Fresenius	Luft	6° C	normal	Rinde/Zw./Mark
7	6 - 9	48 Std	Fresenius	Xenon	6° C	2 atü	Rinde/Zw./Mark
8	8	30 min	Fresenius	Xenon	6° C	normal	keine
9	8	48 Std	Fresenius	Luft	6° C	2 atü	keine
10	4	48 Std	Fresenius	Luft	6° C	2 atü	Rinde / Mark
11	8	48 Std	Fresenius	Xenon	6° C	2 atü	keine

In den übrigen Gruppen folgte nach der Entnahme die Perfusion wie oben angegeben. Lediglich in Gruppe 5 wurde das Perfusat vorher mit dem gut wasserlöslichen Xenon durchperlt, in der Absicht, bereits durch die Perfusion Xenon in das Nierenparenchym einzubringen.

In Gruppe 4, 5, 7, 8 und 11 wurde die Perfusion unter einer Xenon-Atmosphäre vorgenommen. Da keine geeignete Überdruck-Perfusionskammer zur Verfügung stand, war es nicht möglich, die initiale Kühlperfusion bereits unter Überdruckbedingungen stattfinden zu lassen.

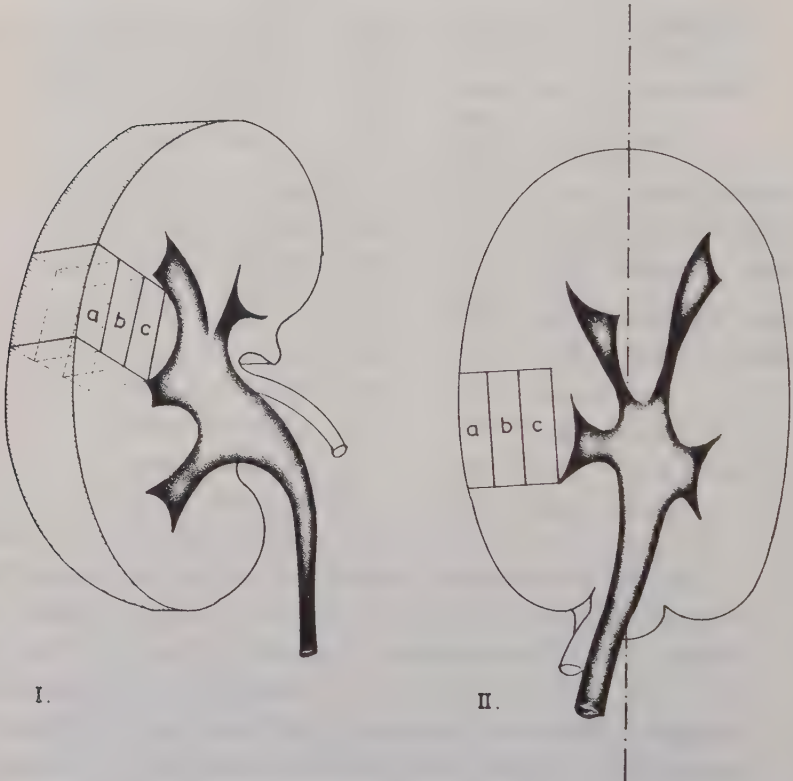
Nach Beendigung der Perfusion wurde in Gruppe 3, 4 und 5 die Niere durch Sektionsschnitt gespalten und aus dem Mittelgeschoß zwischen Hilus und Konvexität jeweils ein von der Rinde bis zum Nierenbecken reichender Gewebskubus entnommen. Der Kubus wurde von außen nach innen in drei parallele Gewebsscheiben unterteilt, die im folgenden als "Rinde" (a), "Zwischenschicht" (b)

und "Mark" (c) bezeichnet werden (Abb. Nr. 5).

Diese Unterteilung deckt sich natürlich nicht exakt mit den anatomischen Strukturen Rinde und Mark, insbesondere die sogenannte Zwischenschicht enthält Nierenrinde und Mark.

ABB. NR. 5

SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER SCHICHTWEISEN GEWEBS-
ENTNAHME ZUR BESTIMMUNG DER ADENINNUKLEOTIDE



I. SCHNITT DURCH DIE NIERE VOM KONVEXEN RAND GEGEN
DEN HILUS

II. QUERSCHNITT DURCH DIE NIERE IN HÖHE DES HILUS

a. RINDE
b. ZWISCHENSCHICHT
c. MARK

Über die normalen Konzentrationen der energiereichen Phosphate in Rinde und Mark der Rattenniere liegen Untersuchungen von ULLRICH und PEHLING vor. Demnach verfügt die stoffwechselaktivere Nierenrinde über große Bestände an energiereichem Phosphat, speziell an ATP, als das Nierenmark, und umgekehrt ist Orthophosphat im Nierenmark in höheren Konzentrationen vorhanden als in der Nierenrinde. Für den Zweck, unterschiedliche AN-Konzentrationen in Abhängigkeit von der Eindringtiefe des Konservierungsmediums und vom Perfussionseffekt zu registrieren, erschien unsere grobe Aufteilung in drei Gewebsschichten jedoch ausreichend.

Nach der Unterteilung wurden die gewonnenen Gewebsscheiben unverzüglich in vorbereitete Behälter aus Drahtgitter gelegt und in flüssigen Stickstoff eingebracht.

Nachdem in Gruppe 1 und 3 - 7 ausreichend Werte zur Verfügung standen, um zur Frage des Schichtunterschiedes Stellung zu nehmen, und da sich darüber hinaus nach der 48-stündigen Konservierungsperiode keine wesentlichen Unterschiede mehr zeigten, wurde in den weiteren Versuchsgruppen 2, 8, 9 und 11 auf eine Schichtunterteilung verzichtet. In Gruppe 6, 7, 9, 10 und 11 folgte auf die initiale Perfusion die 48-stündige, oben beschriebene Konservierungsperiode. Die Nieren der Gruppe 6 wurden für diese Zeit unter Luft bei Normaldruck gelagert. Um den Druckeffekt von einer mediumspezifischen Wirkung abzugrenzen, wurde in Gruppe 9 und 10 das Verhalten der Adeninnukleotide unter 48-stündiger Druckluftaufbewahrung untersucht. Da für diese Gruppe noch keine Schichtuntersuchung vorlag, wurde in Gruppe 10 Rinde und Mark getrennt untersucht.

Nach Beendigung der Konservierungsperiode erfolgte die Gewebsentnahme je nach Versuchsgruppe mit oder ohne Schichtunterteilung mit nachfolgendem Gefrierstop in flüssigem Stickstoff.

Der Verzicht auf die Gewebsunterteilung in Gruppe 2, 8, 9 und 11 ermöglichte es, die Untersuchungen zu den verschiedenen Zeitpunkten (0, 30 min, 48 Std) an der gleichen Niere durchzuführen. Darüberhinaus war es in diesen Gruppen möglich, von den beiden Nieren desselben Tieres jeweils eine dem Xenon-Verfahren zu unterwerfen und die andere unter Luftkonservierung vergleichend zu untersuchen. Der Bedeutung individueller Unterschiede von Tier zu Tier sollte damit nachgegangen werden.

Die Entnahme und Unterteilung des Gewebes wurde unter sterilen Bedingungen durchgeführt, um eine Beeinflussung der Ergebnisse durch bakterielle Verunreinigungen zu vermeiden.

7. Biochemische Aufarbeitung

Die in flüssigen Stickstoff eingefrorenen Gewebeproben wurden in einem vorgekühlten Mörser zu einer Tablette von ca. 1,2 cm gepreßt, diese anschließend zur Enteiweißung in ein Pottergefäß mit eiskalter Perchlorsäure (6 %) gegeben und im Ultraturrax homogenisiert. Auf ungefähr 200 mg Frischgewebe kam 1 ml Perchlorsäure. Wir zentrifugierten bei 13000 U/min 20 min lang, dekantierten den Überstand und trockneten das Sediment zur Bestimmung des Trockengewichtes bei 50° C und 150 torr während 24 Stunden. Der Überstand wurde bis zum Umschlag der als Indikator zugesetzten 0,1 % Methylorangelösung mit 3 n KOH neutralisiert. Der Niederschlag von KClO_4 wurde durch abermaliges 20 min langes Zentrifugieren abgetrennt.

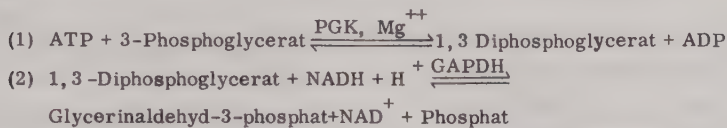
Die gesamte Herstellung des Extraktes erfolgte in einer Kühlkammer bei Temperaturen von $4 - 6^{\circ} \text{C}$.

Der Extrakt wurde auf 10 ml aufgefüllt und anschließend die Analyse in folgender Reihenfolge durchgeführt.

a. Adenosintriphosphat

Die enzymatischen Bestimmungen erfolgten mit Phosphoglycerat-Kinase unter Anwendung handelsüblicher Test-Kombinationen der Fa. Boehringer Mannheim.

Der enzymatische Test beruht auf folgenden Reaktionen:



<u>Lösungen:</u>	Triäthanolaminpuffer	(0,1 M, pH = 7,6)
	Magnesiumsulfat	(0,004 M)
	3-Phosphoglycerat	(0,006 M)
	NADH	(0,012 M)
	GAPDH	4 mg/ml
	PGK	1 mg/ml

Testzusammensetzung:

Extrakt	0,50 ml
Lösung 1	(Triäthanolamin, MgSO_4 , Glycerat-3-Phosphat) 0,50 ml
Lösung 2	(NADH) 0,05 ml
Lösung 3	(GAPDH, PGK) 0,05 ml
Klövettenvolumen :	1,1 ml
Wellenlänge :	ϵ 334 m μ ϵ 366 m μ
Schichtdicke :	d = 1 cm
Temperatur :	10 - 15 $^{\circ} \text{C}$

Berechnung:

$$\frac{E_{\text{ATP}} \times V_a \times V_E \times 10^3}{\epsilon \times V_p \times d \times Tg} = \text{nMol ATP/ g Trockengewicht}$$

$$\epsilon \times V_p \times d \times Tg$$

E_{ATP} = Extinktion gemessen vom Zeitpunkt des PGK-Zusatzes
bis Ende der Reaktion

V_A = Volumen des Testansatzes in der Küvette (1,1 ml)

V_P = Volumen des Extrakteinsatzes (0,50 ml)

V_E = Volumen des Gesamtextraktes (10,0 ml)

$$\epsilon_{334} = 6,0 \times 10^6 \text{ cm}^2 / \text{Mol}$$

$$\epsilon_{366} = 3,3 \times 10^6 \text{ cm}^2 / \text{Mol}$$

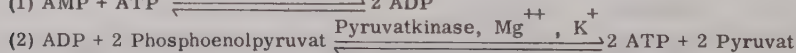
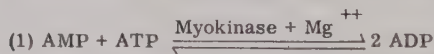
d = Schichtdicke (1,0 cm)

Tg = Trockengewicht in g

b. Adenosindiphosphat und Adenosinmonophosphat

Die enzymatische Bestimmung erfolgte unter Anwendung handelsüblicher Test-Kombinationen der Fa. Boehringer Mannheim mit Pyruvatkinase und Myokinase.

Der enzymatische Test beruht auf der Reaktion:



Indikatorreaktion:



Lösungen:

Triäthanolamin-HCl (0,43 M)

K_2CO_3 (0,55 M)

Phosphoenolpyruvat (0,01 M)

KCL (1,3 M)

MgSO_4 (0,4 M)

NADH (0,006 M)

1 mg LDH/ml

1 mg PK /ml

2 mg MK /ml

Testzusammensetzung:

Extrakt 1 ml

Lösung 1 (0,43 M Triäthanolamin-HCl, 0,55 M K_2CO_3) 1,0 ml

Lösung 2 (0,01 M PEP; 1,3 M KCl; 0,4 M $MgSO_4$) 0,15 ml

Lösung 3 (0,006 M NADH) 0,1 ml

Lösung 4 (1 mg LDH/ml) 0,02 ml

Lösung 5 (1 mg PK/ml) 0,02 ml

Lösung 6 (2 mg MK/ml) 0,02 ml

Küvettenvolumen: 1,29 ml (ADP)

1,31 ml (AMP)

Wellenlänge ϵ 366 m μ

Schichtdicke 1 cm

Temperatur 10 - 15° C

In die Küvette wurden nacheinander zunächst der Extrakt und dann die Lösungen in oben angegebener Reihenfolge pipettiert. Nach Zugabe von Lösung 4 wurde die Extinktion E_1 gemessen, nach Zugabe von Lösung 5 die Extinktion E_2 und schließlich nach Lösung 6 die Extinktion E_3 gemessen.

Dabei gilt:

$$\Delta E_{ADP} = E_1 - E_2$$

$$\Delta E_{AMP} = E_2 - E_3$$

Berechnung:

$$\frac{\Delta E_{ADP} \times V_A \times V_E \times 10^3}{\epsilon \times d \times V_p \times Tg} = n \text{ Mol ADP/g Trockengewicht}$$

$$\frac{\Delta E_{AMP} \times V_A \times V_E \times 10^3}{2 \times \epsilon \times d \times V_p \times Tg} = n \text{ Mol AMP / g Trockengewicht}$$

V_A = Volumen des Testansatzes in der Küvette (1,29 bzw. 1,31 ml)

V_E = Volumen des Gesamtextraktes

V_p = Einsatzvolumen

$\epsilon_{366} = 3,3 \times 10^6 \times \text{cm}^2 / \text{Mol}$

d = Schichtdicke (1,0 cm)

T_g = Trockengewicht in Gramm

Die biochemischen Untersuchungen wurden im Pharmakologischen Institut der Universität Marburg unter Beratung von Herrn Professor Dr. Kunz durchgeführt. Die optischen Fermenttests zur Bestimmung des Gehalts an ATP, ADP und AMP wurden im Eppendorf-Spektralphotometer mit automatischer Registrierung unter Beachtung der Arbeitsanleitungen von HOHORST, KREUZ und BÜCHER, THORN et al., sowie BERGMEYER durchgeführt.

8. Histologische Untersuchungen

Die histologische Untersuchung der Transplantate sowie der Halsnierenpräparate wurde von Herrn Prof. Dr. HUTH, Pathologisches Institut der Universität Düsseldorf, durchgeführt.

Das Nierengewebe wurde lebensfrisch entnommen und sofort in 10%igem neutralem Formalin fixiert. Die Dicke der zu fixierenden Scheiben wurde möglichst unter 5 - 6 mm gehalten. Von den formalin-fixierten Gewebsblöcken wurden Gefrier- und Paraffinschnitte angefertigt. Die Schnitte wurde nach folgenden Methoden gefärbt:

Haematoxylin-Eosin,
Eisenhaematoxylin-Pikrofuchsin nach
van Gieson kombiniert mit Resorcin,
die PAS-Reaktion und
die Sudan-Rot-Färbung.

9. Statistische Berechnung

Ein wichtiger Gegenstand der analytischen Statistik ist der Schluß von der Stichprobe auf die Population. Unter der Annahme, daß die Verteilung der Meßwerte der Normalverteilung folgt, gilt für die Differenz von zwei Mittelwerten bei Wertreihen von kleinem Umfang eine andere Verteilung:

Die t-Verteilung nach Student.

Allgemein fordern Verfahren zur Prüfung von Differenzen zu ihrer Anwendung die Erfüllung der Bedingungen, daß die fragliche Differenz nur von einem einzigen Faktor verursacht ist.

Biologisch experimentelle Voraussetzungen können nicht immer diesen Bedingungen genügen. Die Problematik fällt in den Anwendungsbereich der Varianzanalyse. Sie wird immer dann durchgeführt, wenn die einzelnen Fälle in geeigneter Weise in Stichproben zusammengefaßt oder aufgegliedert sind.

Ihr Rechenablauf beinhaltet, daß Varianzen $s_1^2, \dots$ sich additiv zu einer Gesamtvarianz s^2 zusammenfügen. Es geht hierbei um die Zerlegung einer Gesamtvarianz in die Einzelvarianzen der verursachenden Faktoren; sie erfolgt unter der Voraussetzung quantitativer Messungen. Die einfache Varianzanalyse gibt also Aufschluß darüber, ob sich die einzelnen Gruppenmittelwerte vom Gesamtmittelwert unterscheiden.

Auf der Basis dieser mathematischen Grundlagen haben wir im Gießener Rechenzentrum unsere protekollarisch-tabellarisch festgehaltenen Erhebungen durch das Programm G 00 7 ausgewertet. Das Prinzip dieser Auswertung ist in der Programmbeschreibung der Programm-Bibliothek der CD 3300 - Rechenzentren unter dem Titel "Paarweiser Mittelwertvergleich" (PAMV) dargestellt. Dieses Programm vergleicht je 2 Mittelwerte und prüft mit dem t-Test, ob der Unterschied signifikant ist. Bei ungleichen Varianzen, geprüft mit dem Bartlett-Test, wird der modifizierte t-Test (Aspin-Welch-Test) durchgeführt. Dann schließt sich eine einfache Varianzanalyse an.

Für jede Variable werden bei der Varianzanalyse ausgegeben:

- Anzahl der Beobachtungen;
- Mittelwert;
- Quadratsumme gesamt, innerhalb u. zwischen;
- Freiheitsgrade innerhalb u. zwischen;
- mittlerer quadratischer Fehler gesamt u. innerhalb;
- F-Wert mit Freiheitsgraden für den Bartlett-Test auf Gleichheit der Varianzen;
- F-Wert mit Freiheitsgraden für den Test auf Gleichheit der Mittelwerte.

Zu den Eingabedaten sei vermerkt, daß die Anzahl der Gruppen in diesem Programm auf max. 35 und die Anzahl der Variablen auf max. 100 festgelegt ist. In unserem vorliegenden Fall wurden 4 Variable u. 3 Gruppen eingegeben.

Als Ergebnis erhält man die folgenden Angaben ausgedrückt:

Für jedes Paar von Gruppen werden für jede Variable beim Mittelwertvergleich ausgegeben:

Anzahl der Beobachtungen

Mittelwert

Standardabweichung

Standardabweichung des Mittelwertes

(Obige Ergebnisse für jede der beiden Gruppen):

Chiquadrat - Wert und Irrtumswahrscheinlichkeit für den Bartlett-Test auf Gleichheit der Varianzen mit Angabe des Testergebnisses ("ja" bzw. "nein"; "nein" bedeutet Ungleichheit);

t-Wert mit Freiheitsgrad und Irrtumswahrscheinlichkeit des T-Tests auf Gleichheit der Mittelwerte sowie Testergebnisse("ja" bzw. "nein"; "nein" bedeutet Ungleichheit).

VI. Ergebnisse

1. Adeninnukleotid - Konzentrationen unter verschiedenen Konservierungsbedingungen.

a) Adeninnukleotid - Konzentrationen im Gesamt - Gewebe

Sofort - Werte. Die Bestimmung der stationären Konzentrationen der Adeninnukleotide der Niere wird dadurch erschwert, daß die normale Verteilung durch Stoffwechselalterationen im Moment der Gewebsisolierung beträchtlich verändert werden kann (GERLACH). Bei zu langsamer und wenig schonender Gewebsentnahme kommt es zu einer akuten Verminderung energiereicher Phosphate unter Anreicherung ihrer Abbauprodukte. Die früheren Angaben in der Literatur bezüglich der Adeninnukleotid - Konzentrationen schwankten deshalb erheblich. Erst durch Beachtung einer exakten Entnahmetechnik und Anwendung papierchromatographischer und enzymatischer Bestimmungsmethoden gelang es, Adeninnukleotid - Konzentrationen zu ermitteln, die den Realwert nahekommen dürften. In Tabelle Nr. 4 werden einige in der Literatur mitgeteilte Werte den eigenen Befunden gegenübergestellt.

Tabelle Nr. 4

Adeninnukleotid - Konzentrationen sofort nach Entnahme, angegeben in nMol/g Frischgewicht.

Nr.	Autor	Zeit	ATP	ADP	AMP	Gesamt-AN	Spezies
1	GERLACH	o	2110	680	430	3220	Ratte
2	THORN	o	2200	800	200 - 400	3200	Kaninchen
3	VOSS	o	1960	770	800	3530	Kaninchen
4	VOSS	o	1030	750	900	2680	Hund
5	GERLACH	15 sec	1200	1010	1080	3290	Ratte
6	VOSS	15 sec	1440	740	1650	3840	Kaninchen
7	RICKART	15 sec	660	780	1180	2600	Kaninchen
8	eigene Vers.	15 sec	890	580	180	1800	Hund (Rinde)
9	eigene Vers.	15 sec	550	580	210	1610	Hund (Mark)
10	eigene Vers.	o	1200	720	250	2170	Hund (gesamt)

Die angegebenen Werte beziehen sich dabei auf nMol/g Frischgewicht. Da die eigenen Werte zunächst anhand des Trockengewichts errechnet wurden, mußten sie für diesen Vergleich auf nMol/g Frischgewicht umgerechnet werden. Aufgrund einer größeren Serie wurde die Relation von Frischgewicht zu Trockengewicht mit $100 : 22,3$ ermittelt.

Die eigenen Werte fallen bei Schichtunterteilung insgesamt etwas niedriger aus (Nr. 8 und Nr. 9 der Tabelle). Das ist auf methodische Gründe zurückzuführen, da bei der Gewebsentnahme mit Rücksicht auf die Schichtunterteilung auf eine in - situ - Quetscheinfrierung (WOLLENBERGER) verzichtet wurde. Bei Entnahme ohne Schichtunterteilung unter Anwendung einer Gefrierstopzange (Nr. 10) fanden sich höhere Sofortwerte. Darüberhinaus scheinen die stationären Konzentrationen der Adeninnukleotide bei den kleineren Nagetieren wie Ratte und Kaninchen durchweg etwas höher zu liegen als beim Hund.

Adenosintriphosphat. Sofort nach Unterbrechung der Zirkulation und Beginn der Ischaemie kommt es zu einem starken Verlust an ATP (Tab. Nr. 5). Nach 30 min Ischaemie finden sich ATP-Konzentrationen, die wenig mehr als 10 % der Ausgangswerte ausmachen. Zwischen den Konzentrationen bei 30 - minütiger Perfusion unter Normalatmosphäre und unter Xenonatmosphäre ergeben sich keine signifikanten Unterschiede (Tab. Nr. 6). Nach 48 Stunden Konservierung unter Luft kommt es zu einem zu erwartenden weiteren signifikanten Abfall von ATP ebenso wie bei der Konservierung unter Xenon-Überdruck über diesen Zeitraum. Die ATP-Gehalte unter Xenon und auch unter Druckluft sind zwar geringfügig höher, unterscheiden sich jedoch nicht signifikant. Der bei früheren Untersuchungen an Kaninchennieren nachgewiesene Xenon - Effekt läßt sich bezüglich des ATP an der Hundeniere nicht reproduzieren. Zu berücksichtigen ist dabei allerdings, daß die Überdruckkonservierung nicht bereits bei der Entnahme begann, sondern bei den vorliegenden Versuchen erst nach Beginn der initialen Kühlperfusion.

Adenosindiphosphat. Dem ADP kommt als Zwischenstufe im Adenylatsystem geringere Bedeutung zu. Innerhalb der ersten 30 min Ischaemie ist ebenfalls ein signifikanter ADP - Verlust zu registrieren, der jedoch lange nicht so rapide eintritt wie beim ATP (Tab. Nr. 5). Unter der weitgehend anoxischen Xenonatmosphäre liegen die Werte signifikant höher (Tab. Nr. 6). Dieser Unterschied hat sich allerdings nach der zweitägigen Konservierungsperiode ausgeglichen, sodaß bezüglich des ADP nach 48 Stunden zwischen Luft, Druckluft und Xenon - Überdruck kein wesentlicher Unterschied mehr besteht.

Adenosinmonophosphat. Infolge des stufenweisen Abbaus des ATP unter der fortdauernden Ischaemie kommt es primär zu einer Anreicherung an AMP (Tab. Nr. 5). Entsprechend früheren Untersuchungen an der ischaemischen Kaninchenniere führt der weitere Abbau des AMP erst nach 6 Stunden zu einer signifikanten Verminderung des AMP, wenn Abbaustufen erreicht werden, die für eine Resynthese der Adeninnukleotide nicht mehr herangezogen werden können.

Bei den vorliegenden Untersuchungen kam es nach 30 min zu der erwarteten Zunahme des AMP, die unter Xenon signifikant war. Der Medieunterschied nach 30 min war ebenfalls signifikant (Tab. Nr. 6). Diese vermehrte Anreicherung des AMP unter Xenonatmosphäre ist dabei allerdings nicht als gestelgerter Abbau zu deuten, da dann vergleichsweise die ATP- und ADP-Gehalte niedriger ausfallen müßten. Diese sind aber höher als die entsprechenden Luft - Werte, ein Verhalten, das auch bei Betrachtung der Gesamt - AN evident wird.

Nach 48 Stunden finden sich die AMP - Gehalte sowohl unter Luft wie unter Xenon - Überdruck signifikant reduziert. Die unter Xenon - Überdruck konservierten Nieren weisen jedoch gegenüber den unter Luft aufbewahrten Nieren signifikant höhere AMP - Konzentrationen auf. Die Konzentrationen bei der Vergleichsserie unter Druckluft (2 atü) sind jedoch ebenfalls höher, ein Hinweis darauf, daß dem Überdruck als solchem eine wesentliche Rolle zuzukommen scheint.

Insgesamt ist festzustellen, daß nach 2 Tagen Konservierung unter Xenon - Überdruck immer noch ein signifikant höherer Bestand an AMP gegenüber der Luft - Aufbewahrung vorhanden ist.

Gesamt - Adeninnukleotide. Der gesamte Bestand an Adeninnukleotiden verringert sich nach Einsetzen der Ischaemie gesetzmäßig und kontinuierlich (Tab. Nr. 5). Da eine oxydative Phosphorylierung unter den Konservierungsbedingungen weitgehend entfällt, kann nur die anaerobe Glykose zur ATP - Synthese herangezogen werden. Diese liefert allerdings nur wenig ATP, ist auf die geringen Substratbestände der Niere angewiesen und wird durch die Laktatanreicherung limitiert.

Nach 30 min Ischaemie ist der Adeninnukleotidgehalt unter Luft bereits signifikant abgesunken. Unter Xenon ist der Verlust nach dieser Periode deutlich geringer, aber ebenfalls signifikant (Tab. Nr. 6). Nach 48 Stunden finden sich nach Xenon-Überdruck-Konservierung Gesamt-AN-Konzentrationen, die noch 34,8 % des Sofortwertes ausmachen. Der Adeninnukleotidgehalt unter Druckluftkonservierung beträgt 27,9 %, unter Luftaufbewahrung ist dieser Wert auf 17,1 % abgesunken.

Der Unterschied zwischen den AN - Konzentrationen bei Xenon - Überdruck und bei Luft ist signifikant.

Zusammenfassung. Unter Konservierungsbedingungen in einer Xenonatmosphäre und nach Beendigung der initialen Kühlperfusion kann es nicht gelingen, dem sofort einsetzenden und rapid ablaufenden ATP- Verlust zu steuern. Die bei der Kaninchenniere erzielte signifikante Anhebung des ATP - Niveaus nach einer längeren Konservierungsperiode (8 Tage) läßt sich unter den vorliegenden Versuchsbedingungen nicht reproduzieren. Hingegen lassen sich beim AMP nach der 30-minütigen Perfusion unter Xenonatmosphäre signifikant höhere Werte als bei Luft feststellen, eine Tendenz, die auch bei den Gesamt - AN ihren Ausdruck findet. Dieser Effekt kann auch nach 48 Stunden registriert werden. Auch nach dieser Zeit findet sich noch mehr als das Doppelte an AMP unter Xenonüberdruck gegenüber Luft. Dieser signifikante Unterschied kommt auch bei der Analyse der gesamten Adeninnukleotide zur Geltung.

Interessant ist das Verhalten der Adeninnukleotidkonzentrationen nach dieser Zeit unter einer 2-atü-Druckluft-Konservierung. Während sich beim ATP und ADP kaum Unterschiede zu den anderen Verfahren ergeben, sind die AMP - Konzentrationen und damit auch die Gesamt - AN - Gehalte deutlich

höher als bei Luft und nähern sich den Werten bei Xenonüberdruck.

Es kann festgestellt werden, daß nach einer 48-stündigen Konservierung unter Xenonüberdruck die Konzentration an AMP und der Gesamt - AN - Gehalt signifikant höher liegen als unter Luftaufbewahrung.

Geht man davon aus, daß der verminderte Gehalt an Adeninnukleotiden Ausdruck einer energetischen Insuffizienz eines ischaemischen oder konservierten Organs ist, so ist dem angewandten Verfahren ein deutlicher Konservierungseffekt zuzusprechen. Da die Resynthese des ATP vom Gesamtbestand der noch vorhandenen Nukleotide aus erfolgt, müßten mit Xenonüberdruck konservierte Nieren nach Transplantation besser in der Lage sein, ihren Bestand an energiereichen Phosphaten wiederaufzubauen.

Das Verhalten der Adeninnukleotide kann sicher kein alleiniges Kriterium für den Erfolg eines Konservierungsverfahrens hinsichtlich der Organvitalität darstellen. Als wesentlicher Parameter des Energiestoffwechsels zeigen die Adeninnukleotide jedoch eine enge Relation zur Ischaemietoleranzzeit eines ischaemischen Organs, so daß die Adeninnukleotidkonzentration zur Beurteilung der Effektivität von Konservierungsverfahren mit herangezogen werden kann.

Tabelle Nr. 5

Adeninukleotid-Konzentrationen nach verschiedenen Ischaemiezeiten und unterschiedlichen Konservierungsbedingungen.

Angaben in nMol/g Trockengewicht

— > — = signifikant — n. s. — = nicht signifikant

Zeit	0 (Sofort-Wert)		30 min		48 Stunden	
			Luft	Xenon	Luft	Xenon (2 atü)
Medium						
Tab. Nr.	15		26	27	26	27
ATP	5387	>	557		137	
		>	614		256	
ADP	3231	>	1208		825	
		>	1786		899	
AMP	1140	n. s.	1607		824	
		<	3869		2088	
Gesamt-AN	9748	>	3467		1670	
		>	6636		3398	

Anmerkung : Es handelt sich um Mittelwerte, die aus den Tabellen im Anhang entnommen wurden.

(Tab. Nr. 12, 23 und 24).

Tabelle Nr. 6

Vergleich der Adeninnukleotid-Konzentrationen bei verschiedenen Medien

Angaben in nMol/g Trockengewicht — < — = signifikant — n. s. — nicht signifikant

Zeit Medium Tab. Nr.	30 Min		48 Stunden		
	Luft	Xenon	Luft	Luft 2atü	Xenon 2atü
ATP	26	27	26	22	27
	557— n.s. —614		137— n.s. —297 — n.s. —	— n.s. —	— n.s. —256
ADP	1208—<—1786		825— n.s. —857 — n.s. —	— n.s. —	—899
AMP	1607—<—3869		824— n.s. —1569 —<—	— n.s. —	—2088
Gesamt-AN	3467—<—6636		1670— n.s. —2722 —<—	— n.s. —	—3398

Anmerkung : Es handelt sich dabei um Mittelwerte, die aus den Tabellen im Anhang entnommen wurden.
(Tab. Nr. 19, 23 und 24).

b) Adeninnukleotid - Konzentrationen in verschiedenen Gewebsschichten.

Nach GERLACH verfügt die Stoffwechsel - aktivere Nierenrinde über nahezu doppelt so große Bestände an energiereichem Phosphat, speziell an ATP; ein Befund, der darin seine Erklärung findet, daß die meisten aktiven renalen Transportvorgänge in den Mitochondrien-reichen und stark atmenden Tubulusabschnitten stattfinden, die deshalb auch die höchsten energetischen Bedürfnisse aufweisen. Auch ULLRICH und PEHLING fanden von der Nierenrinde zur Papillenspitze abnehmende Gehalte an ADP und AMP, während sich ATP (wohl entnahmetechnisch bedingt) uneinheitlich verhielt.

Die vorliegenden Untersuchungen der AN-Konzentrationen in verschiedenen Gewebsschichten der Niere wurden durchgeführt, um daraus möglicherweise einen unterschiedlichen Konservierungseffekt in Abhängigkeit von der Permeationsgeschwindigkeit des Konservierungsmediums aufzudecken.

Adenosintriphosphat. Beim ATP liegen die O-Werte in der Rindenzone deutlich, jedoch nicht signifikant, höher als im Markbereich (Tab. Nr. 7 a). Dieser Schichtunterschied gleicht sich im Laufe der beobachteten Konservierungsperiode aus. Nach 30 min und 48 Stunden finden sich in den verschiedenen Schichten keine signifikanten Unterschiede der ATP - Gehalte - weder bei Luftaufbewahrung noch bei Xenonkonservierung. Auch die Druckluftkonservierung (48 Std.) läßt keine signifikanten Unterschiede zwischen Rinde und Mark erkennen.

Adenosindiphosphat. Auch beim ADP lassen sich bei den O-Werten und nach 30 min keine Schichtunterschiede und keine Unterschiede bezüglich der angewandten Konservierungsverfahren feststellen (Tab. Nr. 7 b). Nach 48 Stunden findet sich ein signifikanter Unterschied zwischen Rinde und Mark unter Luftaufbewahrung. Bei Xenon und Druckluft ist dieser Befund nicht zu registrieren.

Adenosinmonophosphat. Unterschiedliche AMP-Gehalte in Rinde und Mark sind bei der Entnahme (O-Wert) nicht zu beobachten (Tab. Nr. 7 c). Nach 30 min Ischaemie findet sich jedoch bei allen angewandten Verfahren in der Rinde eine signifikant höhere AMP-Konzentration als im Markbereich. Dieser Unterschied gleicht sich nach 48 Stunden aus. Auch bei Druckluft ist nach diesem

Zeitraum kein signifikanter Schichtunterschied feststellbar.

Gesamt-Adeninnukleotide. Bei den Gesamt-AN zeichnet sich bei den 30 min-Werten die gleiche Tendenz ab wie beim AMP mit signifikanten Unterschieden zwischen Rinde und Mark (bei Luft allerdings nicht signifikant). Nach 48 Stunden ist die Verteilung der AN weitgehend ausgeglichen (Tab. Nr. 7 d).

Zusammenfassung : Bei der Bestimmung der AN-Konzentrationen in verschiedenen Gewebsschichten finden sich zumeist höhere Konzentrationen in der Rinde als im Markbereich. Die Unterschiede sind jedoch nur beim AMP und den Gesamt-AN nach 30 min signifikant. Nach längerer Konservierungsdauer gleichen sich diese Gewebsunterschiede aus. Der signifikante Unterschied beim ADP nach 48 Stunden ist schwer zu interpretieren. Im Vergleich mit der Xenon- und Druckluftgruppe liegt es nahe, eine Druckabhängigkeit anzunehmen. Insgesamt ist eine Abhängigkeit von den angewandten Konservierungsverfahren nicht feststellbar.

c) Zusätzliche physikalische Aufsättigung des Perfusats mit Xenon
("Xenon-durchperlt")

In Versuchsgruppe 5 wurde die Perfusionslösung vor Beginn der Perfusion mit dem gut wasserlöslichen Xenon (Bunsenkoeffizient 0,085) durchperlt, um das Perfusat mit Xenon anzureichern. Signifikante Unterschiede im Verhalten der Adeninnukleotide nach 30-minütiger Perfusion mit dem in dieser Weise modifizierten Perfusat konnten dabei nicht aufgedeckt werden. Die Adeninnukleotidgehalte nach Perfusion mit "Freseniuslösung durchperlt" wiesen in allen Gewebsschichten im wesentlichen die gleiche Tendenz auf wie bei normaler Perfusion unter Xenonatmosphäre. Auf die Adeninnukleotid-Bestimmung nach 48-stündiger Konservierung unter dieser Versuchsordnung wurde verzichtet, da keine weitere Änderung zu erwarten war. (Tab. Nr. 7 a - 7 d).

Tabelle Nr. 7 a

ATP-Konzentrationen der Hundeniere in verschiedenen Gewebsschichten

Angaben in nMol/g Trockengewicht		----- < ----- = signifikanter Unterschied			
Gewebsschicht	Luft		Xenon		Luft 2 atü
	0	30 min	48 Std	30 min 48 Std	
Rinde	4015	462	152	211 177	327 265
Zwischensch.		665	124	386 212	472 ---
Mark	2479	545	136	208 292	280 329

Es handelt sich um die Mittelwerte aus den Versuchsgruppen 1, 3 - 7 und 10 (Tab. Nr. 11, 13 - 17 und 20).

Es bestehen keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle Nr. 7 b

ADP-Konzentrationen der Hundeniere in verschiedenen Gewebsschichten

Angaben in nMol/g Trockengewicht		----- < ----- = signifikanter Unterschied			
Gewebsschicht	Luft		Xenon		Luft 2 atü
	0	30 min	48 Std	30 min 48 Std	
Rinde	2618	1139	939	1619 965	1630 783
Zwischensch.	----	1164	572	1795 772	1477 ---
Mark	2615	1323	592	1532 1084	1395 900

Es handelt sich um die Mittelwerte aus den Versuchsgruppen 1, 3-7 und 10 (Tab. Nr. 11, 13 - 17 und 20).

Tabelle Nr. 7 c

AMP-Konzentrationen der Hundeniere in verschiedenen Gewebsschichten

Angaben in nMol/g Trockengewicht

— < — = signifikanter Unterschied

Gewebsschicht	L u f t		X e n o n		Xenon-durchperl		Luft 2 attü 48 Std
	0	30 min	48 Std	30 min	48 Std	30 min	
Rinde	801	2406	973	4630	2309	3452	1338
Zwischensch.	- -	1458	841	3677	1133	3020	- -
Mark	947	841	770	1913	1937	1708	1519

Es handelt sich um die Mittelwerte aus den Versuchsgruppen 1, 3 - 7 und 10 (Tab.Nr. 11, 13 - 17 und 20).

Tabelle Nr. 7 d

Gesamt-AN-Konzentrationen der Hundeniere in verschiedenen Gewebsschichten

Angaben in nMol/g Trockengewicht

— < — = signifikanter Unterschied

Gewebsschicht	L u f t		X e n o n		Xenon-durchperl		Luft 2 attü 48 Std
	0	30 min	48 Std	30 min	48 Std	30 min	
Rinde	8067	4137	1968	7020	4335	5407	2386
Zwischensch.	- -	3648	1524	5905	2174	4979	- -
Mark	7201	2618	1547	3653	3540	3366	2759

Es handelt sich um die Mittelwerte aus den Versuchsgruppen 1, 3 - 7 und 10 (Tab.Nr. 11, 13 - 17 und 20).

Die Mittelwerte der Gesamt-AN (Tab.Nr. 7 d) weichen gering von den Mittelwerten der einzelnen AN ab (Tab.Nr. 7 a, 7 b und 7 c), da für die Berechnung der letzteren z. T. mehr Einzelwerte zur Verfügung standen.

d) Einfluß individueller Unterschiede von Tier zu Tier

Der Verzicht auf die Schichtunterteilung in einzelnen Versuchsgruppen gab die Möglichkeit, die AN-Bestimmung zu den verschiedenen Zeitpunkten an demselben Organ durchzuführen. Außerdem wurde dabei in der Weise verfahren, daß immer eine Niere des Versuchstieres dem Xenonverfahren unterworfen wurde und die kontralaterale Niere unter Luftaufbewahrung untersucht wurde.

In Tabelle Nr. 8 wurden die AN-Konzentrationen in den Nieren von 4 Hunden zum Zeitpunkt der Entnahme (0 - Werte) miteinander verglichen. Es wurde dabei jeweils die Summe der Mittelwerte der einzelnen Adenin-nukleotide gebildet und dieser Wert hinsichtlich eines signifikanten Unterschiedes bei den einzelnen Hunden statistisch geprüft. Es konnte festgestellt werden, daß die Ausgangswerte der einzelnen Tiere keine signifikanten Schwankungen aufweisen.

Auch der Vergleich der 0 - Werte zwischen linker und rechter Niere ergab im wesentlichen keinen signifikanten Unterschied. Lediglich beim AMP fielen zwei Werte als signifikant niedriger auf. Bei Betrachtung der übrigen Adenin-nukleotide dieser Niere kann dieser Befund nur als Meßungenauigkeit aufgefaßt werden.

Zusammengefaßt kann man davon ausgehen, daß die Schwankungen der 0-Werte zwischen den einzelnen Tieren und auch zwischen den beiden Nieren eines Tieres unerheblich und im allgemeinen nicht signifikant sind .

Tabelle Nr. 8

Vergleich beider Nieren desselben Tieres und Vergleich der einzelnen Tiere gegeneinander hinsichtlich der AN - Konzentrationen bei der Entnahme (0 - Werte)

Angaben in nMol/g Trockengewicht				* signifikant unterschiedlich			
Tier Nr.	A T P		A D P		A M P		Gesamt -AN
	li	re	li	re	li	re	
Hund A	5000	4980	3440	3220	1090	1260	9530 9460
	5929	3240	3230	3400	808	1690	9960 8330
Hund B	4710	4420	3360	3120	1030	980	11100 8520
	6000	5800	3720	3080	1190	770	10910 9650
Hund C	6080	6370	3960	3160	1230	2040	11270 11570
	4870	6280	3220	3460	1080	2370	9170 12110
Hund D	5050	5500	2080	3200	365*	1010	7495 9710
	7020	4800	2520	3520	295*	1030	9835 9350

Die Werte entstammen der Versuchsgruppe 2 und sind der Tabelle Nr. 12 im Tabellenanhang entnommen.

2. Ergebnisse nach autologer Transplantation von Xenon-konservierten Hundenieren

Nach der oben beschriebenen Technik wurden an insgesamt 11 Hunden autologe Transplantationen von hypotherm unter Xenon-Überdruck konservierten Nieren durchgeführt (**Tab. 9**). Nicht berücksichtigt sind Vorversuche und Experimente, bei welchen die Transplantation aus technischen Gründen scheiterte. In 2 Fällen (Nr. 714, Nr. 722) mußte 1 Stunde nach Herstellung gut funktionierender Gefäß-anastomosen das Transplantat wieder entfernt werden, da es zu blauroter Verfärbung des Organs und zu einer intrarenalen Durchblutungsstörung (intrarenaler Block) kam.

Die Konservierungszeit betrug bei fünf Nieren 2 Tage, entsprechend den Konservierungsbedingungen bei der Untersuchung der Adeninnukleotide. In 6 weiteren Versuchen wurden Konservierungszeiten bis maximal 7 Tage gewählt. Kürzere Konservierungszeiten erschienen nicht sinnvoll, da dann eine eindeutige Abgrenzung gegen einen nur durch Hypothermie bedingten Konservierungseffekt nicht mehr möglich ist. Die Verweildauer der Transplantate in situ schwankte zwischen 1 Stunde (in den oben angegebenen Fällen) und längsten 26 Tagen. Diese Zeitspanne wurde wesentlich von postoperativen Komplikationen mitbestimmt. Im Allgemeinen wurde die Organe jedoch mindestens 6 Tage in situ belassen. Nach der operativen Transplantatentfernung bzw. nach der Entnahme bei der Sektion wurden die Organe sofort in Formalin fixiert. In der Regel kam es nach Fertigstellung der Gefäßanastomosen und Freigabe der Zirkulation unverzüglich zu einer guten Durchblutung des transplantierten Organs. Die nach Konservierung und Perfusion blaugrau verfärbten Nieren nahmen rasch wieder eine normale Färbung an, palpatorisch ließ sich auch intrarenal eine Pulsation nachweisen, die anfänglich noch vermehrte Konsistenz normalisierte sich. Aus dem Harnleiter kam es zu einer zögernden, tropfenweisen Flüssigkeitsentleerung. In Hinblick auf die Operationsbelastung wurde von einer längeren Beobachtung der Flüssigkeitsausscheidung Abstand genommen, zumal die Untersuchungen an

Tabelle Nr. 9

Autologe Nierentransplantation nach Xenon-Konservierung

Vers. Nr.	Kons. dauer	Verweil- dauer	Hist.	Nephrekt. (N) Sektion (S)	Todesursache	Befund bei Entnahme
721	2 Tage	25 Tage	+ ja	S	Wundinfektion	Organ hochgr. geschrumpft, massive Nekrosen (Rinde u. Mark)
723	2 Tage	1/2 Tag	+ ja	S	Kreislauf- versagen	äußerlich unauffällig
724	2 Tage	1 Tag	+ ja	S	Kreislauf- versagen	äußerlich unauffällig
733	2 Tage	12 Tage	+ ja	S	Nachblutung aus der Wunde	etwas verkleinertes Organ, hochgradige Verwachsungen
722	2 Tage	1 Std.	+ ja	N	entf.	blaurote Verfärbung, keine Durchblutung (intraren. Block)
725	3 Tage	26 Tage	+ ja	N	entf.	deutl. verkleinertes Organ, Oberfläche noch durchblutet.
728	3 Tage	7 Tage	+ ja	N	entf.	normal groß, Oberfläche gut durchblutet (Infarktbezirk)
713	4 Tage	6 Tage	+ ja	S	Wundinfektion	normal groß, erhebliche Verwachsungen
729	5 Tage	16 Tage	+ ja	N	entf.	normal groß, punktförmige weiße Narben, Oberfläche gut durchblutet.
731	5 Tage	6 Tage	nein	S	Wundinfektion	Totalnekrose
714	7 Tage	1 Std.	+ ja	N	entf.	blaurote Verfärbung, keine Durchblutung (intraren. Block)

Halsnierenpräparaten ergaben, daß eine wesentliche Frühfunktion bzw. eine sofortige Funktionsaufnahme der konservierten Niere nicht zu erwarten war.

Bei den postoperativen Komplikationen stand die Wundinfektion im Vordergrund. Sie zog wiederholt eine Sepsis nach sich und hatte schließlich den Exitus des Tieres zur Folge. Kreislaufkomplikationen waren vor allem in der Gruppe mit kurzer Konservierungsdauer zu beobachten, d.h. wenn bereits 48 Stunden nach der Nephrektomie die Transplantation des konservierten Organs vorgenommen wurde.

Der Befund bei der Entnahme des Transplantats war unterschiedlich. Die Gefäß- wie die Harnleiteranastomosen erwiesen sich mit einer Ausnahme (Nr. 731) in allen Fällen als gut durchgängig. Bei Nr. 731 war es zu einer völligen Transplantatnekrose mit weitgehender Resorption des verpflanzten Organs gekommen.

Die Organe, die innerhalb der ersten drei Wochen wieder freigelegt wurden, wiesen noch annähernd eine normale Größe auf, die beiden 25 bzw. 26 Tage in situ belassenen Transplantate waren erheblich geschrumpft. Mehr oder minder starke entzündliche Veränderungen und Verwachsungen in der Umgebung der Transplantate fanden sich in allen Fällen. Die in vivo freigelegten Transplantate wiesen alle noch eine sichtbare Durchblutung an der Oberfläche der transplantierten Organe auf.

Nach der Transplantatentnahme wurden die transplantierten Hundenieren histologisch untersucht. Der Untersucher, Herr Prof. Dr. Huth, Düsseldorf, hatte keine Kenntnis über die jeweils vorliegenden Versuchsbedingungen. Im folgenden sind die Untersuchungsbefunde in der Reihenfolge der Tabelle 9 aufgeführt.

Histologische Befunde an xenonkonservierten, autolog transplantierten Hundenieren

Nr. 721 (Abb. 6)

Fortgeschritten komplette ältere Nekrose des gesamten Nierengewebes mit Verkalkungen und dichten entzündlichen Zellinfiltraten.

Nr. 723

Regelrecht breite Parenchymschichten. Die Glomerula mäßig gut erhalten. Das Harnkanälchenepithel jedoch mit fortgeschrittenen Nekrosen. Die peritubulären Kapillaren hyperämisch. Beginnende Hämorrhagien.

Beurteilung: Diffuse Nekrose. Hämorrhagische Infarzierung.

Nr. 724 (Abb. 7)

Fortgeschrittene Nekrosen aller Nephren mit sekundärer hämorrhagischer Infarzierung.

Nr. 733

Neben einer hämorrhagischen und leukozytär-infiltrierten Kapsel ein weitgehend nekrotisches Nierenparenchym mit kompletter Nekrose des gesamten Papillengewebes.

Nur hin und wieder noch Harnkanälchen mit etwas erhaltenem Epithel. Daneben einzelne weitgehend intakte Glomerula.

Beurteilung: Weitgehend nekrotisches Nierenparenchym mit kleinen Inseln mäßig intakten Gewebes.

Nr. 722

Regelrecht breite Parenchymschichten. Die Glomerulumschlingen stark hyperämisch. Die peritubulären Kapillaren ebenfalls. Stellenweise beginnende Hämorrhagien. Das Kanälchenepithel stellenweise relativ gut erhalten, an anderen Stellen aber auch mit kompletten Nekrosen und eiweißreichen Zylindern.

Beurteilung: Stellenweise mäßig gut erhaltenes Nierenparenchym mit akuter Blutansammlung und beginnender hämorrhagischer Infarzierung.

Nr. 725

Leicht fibrosiertes Nierenparenchym mit einzelnen breiteren Narbenstreifen und unterschiedlich großen, vielfach hyalinisierten Glomerula. Die Kanälchen durchweg mit flachem atrophischem Epithel und dichten Eiweißzylindern. Die Papillen vollständig nekrotisch. Stellenweise schütterere Rundzelleninfiltrate. Die Lymphsammelgefäße stark erweitert.

Beurteilung: Fortgeschrittene ältere Nekrose und sekundäre Fibrose sowie ausgeprägte nephrotische Veränderungen.

Nr. 728

Histologisch völlig nekrotisches Nierenparenchym mit eitrigem Zerfall der Markkegel. Die Rindenstrukturen noch schattenhaft erkennbar. Das nekrotische Harnkanälchenepithel mit Kalksalzniederschlägen. Die Nierenkapsel hämorrhagisch. Die angrenzende Nierenbeckenwand rundzellig infiltriert, aber nicht nekrotisch. Hier einzeln stark gestaute Lymphgefäße.

Beurteilung: Vollständige Nierennekrose mit eitrigem Zerfall des Markes.

Nr. 713 (Abb. 8)

Vollständige ältere Nekrose des Nierengewebes mit Verkalkungen und eitriger Demarkierung der nekrotischen Papille.

Nr. 729

Nierenparenchym mit vernarbter und rundzellig infiltrierter Kapsel. Die Glomerula mit verdickter Schlingenwand, aber noch offenen Lumina. Das Interstitium ödematös, mäßig fibrosiert und rundzellig infiltriert. Die Harnkanälchen hochgradig atrophisch und durchsetzt mit Eiweißzylindern. Die nekrotische Papille durch ein leukozytäres Infiltrat demarkiert. Die Lymphgefäße stark erweitert.

Beurteilung: Zustand nach älterer Nekrose praktisch aller Harnkanälchen. Deutliche totale Papillennekrose mit Demarkierung.

Nr. 714 (Abb. 9)

Regelrecht breite Parenchymschichten. Die Glomerula und vor allem auch die peritubulären Markpapillen hochgradig hyperämisch. Subkapsulär einzelne Kanälchengruppen mit noch weitgehend intaktem Epithel. Auch in der inneren Markzone und in der Papille intaktes Epithel. Die übrigen Schichten aber mit fortgeschrittenen Nekrosen.

Beurteilung : Weitgehend nekrotisches Kanälchenepithel mit Ausnahme eines subkapsulären Streifens und nahezu intaktem Epithel in den distalen Nephronabschnitten.

Histologische Befunde an konservierten Nieren ohne Transplantation

Nr. 726 a (Abb. 10)

Regelrecht breite Parenchymschichten. Die Glomerula unauffällig. Die Harnkanälchen nur mit leichten Epithelschwellungen. Die Kerne des Kanälchenepithels jedoch mit beginnenden Pyknosen. Das Interstitium etwas ödematös. Auch in den mittleren Nephronanteilen erste Pyknosen.

Beurteilung : Ischaemisches Nierenparenchym von relativ guter Erhaltung. Wegen der zahlreichen Kernpyknosen ist die Prognose aber auf die Dauer nur mit Vorsicht zu stellen.

Nr. 726 b (Abb. 11)

Histologisch stark ödematöses Nierenparenchym. Die Rindenkanälchen durch das Ödem auseinandergedrängt. Die Glomerulumschlingen vielfach ektatisch. Nur in einzelnen Schlingen wenige Erythrocyten. Das Hauptstückepithel teils grob-vakuolig, teils schaumig aufgelockert. Die Kerne in der überwiegenden Zahl intakt, etwa 1/3 der Kerne pyknotisch. Nur ganz vereinzelt Kanälchen mit kompletten Epithelnekrosen. Die Mittelstücke zeigen ähnlich wie die Hauptstücke - vor allem im dicken Teil der Henle'schen Schleife - Kernpyknosen. Zylinder finden sich nicht. Das Epithel der Sammelrohre und der Ductus papillares etwas hydropisch, aber mit intakten Kernen. Die Muskulatur der größeren Arterien ebenfalls etwas ödematös. Daneben stark entfaltete Lymphgefäße. Beurteilung : Niere mit beginnenden Nekrosen aller Nephronabschnitte. Das Ödem des Interstitiums wie auch die Überdehnung der Gefäße dürften auf Perfusion mit zu hohem Druck beruhen. Da das Harnkanälchenepithel zum überwiegenden Teil noch intakt ist und die Glomerulumschlingen weit offen sind, dürfte diese Niere nicht nur überleben, sondern auch gut funktionieren.

Nr. 801 (Abb. 11 a)

Im Nierenrindengewebe findet sich ein nekrotischer Aufbruch von Glomerulaschlingen mit Fibringerinnsel. Ausgedehnte Kernpyknosen und herdförmige nekrotische Zellen. Aufbrüche des Hauptstückepithels.

Nr. 801 (Abb. 11 b)

Es zeigen sich beginnende Kernpyknosen der Glomerulaschlingen. Fortgeschrittener nekrotischer Zerfall des gesamten Hauptstückepithels. Kernpyknosen in den distalen Nephronabschnitten.

Die histologische Untersuchung der transplantierten Nieren ergab bei allen Transplantaten so fortgeschrittene nekrotische Veränderungen, daß den Organen keine Überlebenschancen zugebilligt werden können und auch mit keiner intermittierenden Aufnahme der Funktion zu rechnen ist. Trotz dieser enttäuschenden Feststellung soll der Versuch unternommen werden, die einzelnen

Befunde zu analysieren und graduelle Unterschiede zu diskutieren.

Erhebliche Schwierigkeiten bereitet die Abgrenzung von Veränderungen, die während der Konservierungsperiode entstanden sind, gegen sekundäre Schädigungen nach der neuerlichen Perfusion, nach Rezirkulation und endlich nach längerer Verweildauer *in situ*.

Ergänzend werden deshalb noch histologische Befunde an konservierten Nieren vor und nach Perfusion ohne Rezirkulation und Transplantation mit beigezogen (Nr. 726 a, 726 b, 801, Abb. 10 - 11 b). Das Nierenparenchym der drei Tage unter Xenon-Überdruck hypotherm konservierten Nieren zeigt noch einen relativ guten Erhaltungszustand. Die Glomerula sind unauffällig, es sind jedoch bereits Kernpyknosen erkennbar. Ein Vergleich mit den histologischen Befunden von Nieren, die über den gleichen Zeitraum unter Luft konserviert wurden, ergibt bei letzteren stärkere Veränderungen bis zu Schlingennekrosen. In den erhaltenen Glomerula sind fast alle Schlingenlumina kollabiert. Auch die Alterationen des Tubulusepithels sind stärker ausgeprägt. Es finden sich vor allem an den Hauptstücken fortgeschrittene Kernpyknosen und ausgedehntere nekrotische Epithelaufbrüche.

Der Befund an den xenonkonservierten Nieren nach neuerlicher Perfusion (nach der Konservierungsperiode) ist gekennzeichnet durch ein massives Ödem. Die Rindenkanälchen werden durch das Ödem auseinandergedrängt, das Epithel der Sammelrohre wird hydropisch, die Muskulatur der größeren Arterien erscheint ebenfalls ödematös. Wenngleich dieses Ödem in Anbetracht des sonst relativ guten Erhaltungszustandes reversibel erscheint, so ist es doch zweifellos einer durch die Konservierung bedingten Schädigung der Kapillar- und Zellwände zuzuschreiben. In der Gruppe von Transplantaten, die nach Etablierung der Rezirkulation nur relativ kurzzeitig *in situ* verblieben (Nr. 723, 724, 733, 722, 714), finden sich neben diffusen Nekrosen immer noch einzelne erhaltene Strukturen. Neben stellenweise relativ wenig geschädigtem Epithel der Harnkanälchen finden sich meist gut erhaltene Glomerula. Da die Glomerula wesentlich weniger ischaemianfällig als die mitochondrienreichen Tubuluszellen sind, kommt dieser Befund nicht unerwartet (OPITZ).

In der Transplantatgruppe mit längerer Verweildauer (6 - 26 Tage) lassen sich fortgeschrittene und fast vollständige ältere Nekrosen mit teilweise bereits einsetzender Verkalkung und entzündlichen Infiltraten registrieren. Hinweise für eine auch nur stellenweise Regeneration des Harnkanälchenepithels lassen sich nicht feststellen. Vergleicht man den Schädigungsgrad mit der Konservierungsdauer, so lassen sich zwischen der Gruppe von Transplantaten, die nur 2 Tage konserviert wurden und den übrigen länger konservierten Transplantaten keine grundsätzlichen Unterschiede erkennen. Zusammenfassend muß konstatiert werden, daß zwar nach der Konservierungsperiode das Nierenparenchym histologisch noch relativ gut erhalten erscheint, daß jedoch nach der einsetzenden Rezirkulation und insbesondere nach längerer Verweildauer eine fast völlige Nekrose des Parenchyms offenbar wird.

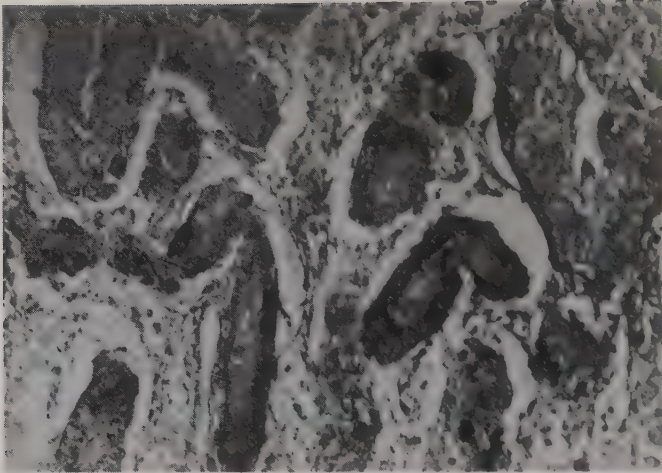


Abb. 6

Hundeniere (Nr. 721), 2 Tage hyperbare Xenonkonservierung, Verweildauer 25 Tage
Komplette ältere Nekrose des Nierengewebes mit sekundären Verkalkungen. HE 310 x

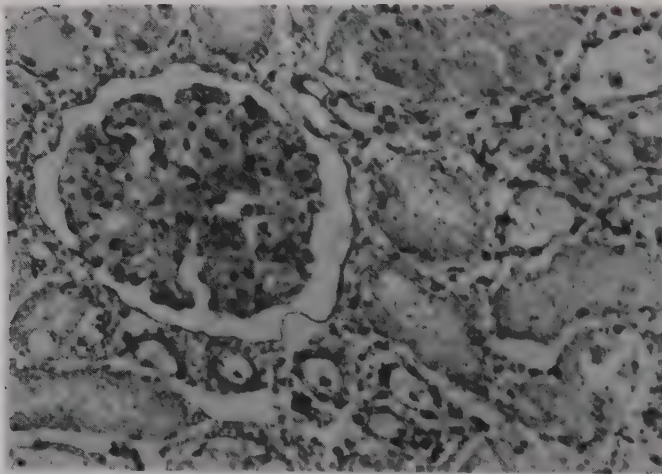


Abb. 7

Hundeniere (Nr. 724), 2 Tage hyperbare Xe-Konservierung, Verweildauer 1 Tag
Nierenrindengewebe mit fortgeschrittenen Kanälchennekrosen und Zeichen
hämorrhagischer Infarzierung. HE 310 x

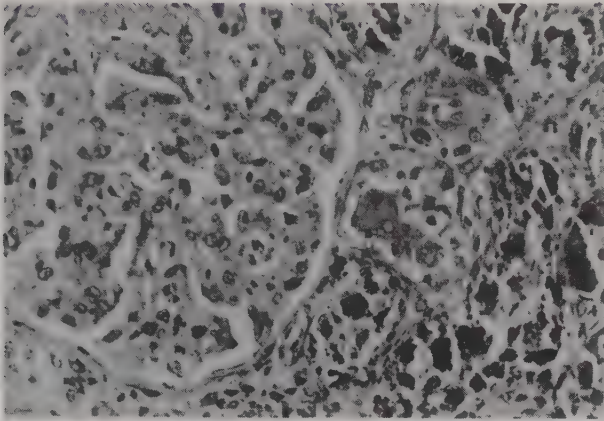


Abb. 8

Hundeniere (Nr. 713), 4 Tage hyperbare Xenonkonservierung, Verweildauer 6 Tage. Nierenrindengewebe mit leicht verklumpten Glomerulumschlingen und fortgeschrittenen älteren Tubulusnekrosen sowie ausgedehnten regressiven Verkalkungen. HE 310 x

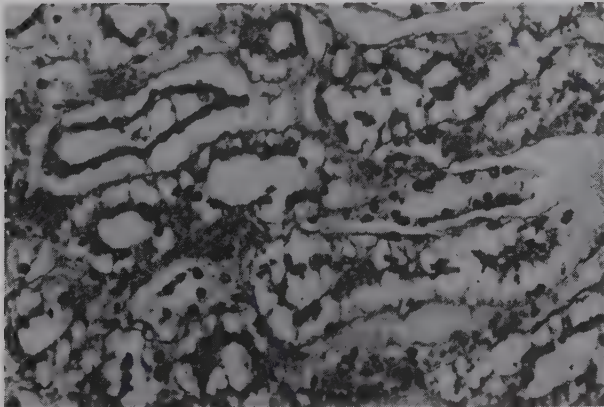


Abb. 9

Hundeniere (Nr. 714), 7 Tage hyperbare Xenonkonservierung, Verweildauer 1 Std. Ausgeprägter Hydrops der Harnkanälchenepithelien im Markbereich mit beginnenden Kernpyknosen bei ausgedehnten Nekrosen der proximalen Nephronanteile. HE 310 x

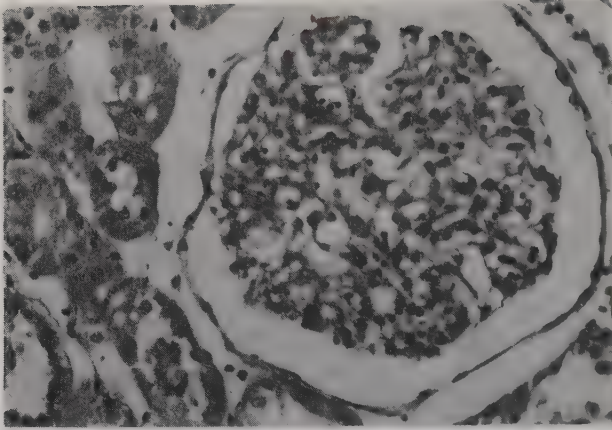


Abb. 10

Hundeniere (Nr. 726 a), 3 Tage hyperbare Xenonkonservierung, vor Perfusion, keine Transplantation.

Ischaemisches Nierenrindengewebe mit relativ guter Erhaltung des Kanälchenepithels und offenen Glomerulumschlingen. Das interstitielle Ödem ist ausgeprägt. Erste Kernpyknosen deuten auf beginnende Nekrosen hin. HE 310 x

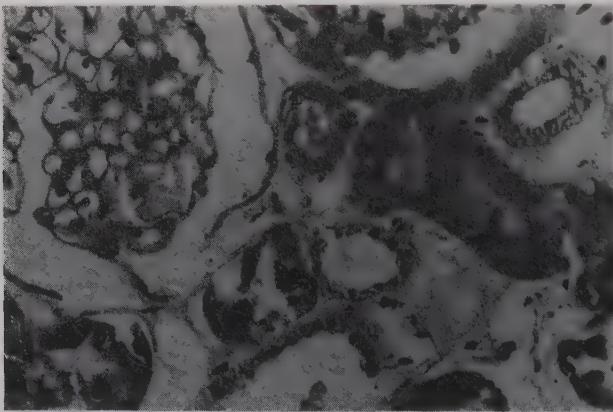


Abb. 11

Hundeniere (Nr. 726 b), 3 Tage hyperbare Xenonkonservierung, nach Perfusion, keine Transplantation.

Stark ödematöses Nierengewebe mit offenen Glomerulumschlingen. Das Interstitium ödematös. Das Harnkanälchenepithel mit einzelnen Zellnekrosen. HE 310 x

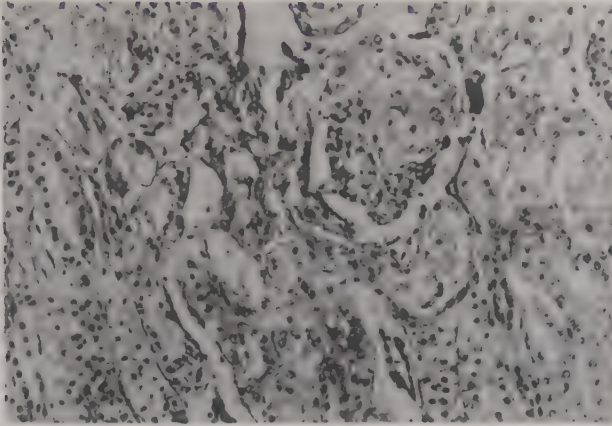


Abb. 11 a

Hundeniere (Nr. 801), 3 Tage hypotherme Luftaufbewahrung, keine Transplantation.

Nierenrindengewebe mit nekrotischem Aufbruch von Glomerulumschlingen mit Fibringerinnsel. Ausgedehnte Kernpyknoten, Aufbrüche des Haupteithels. HE 250 x

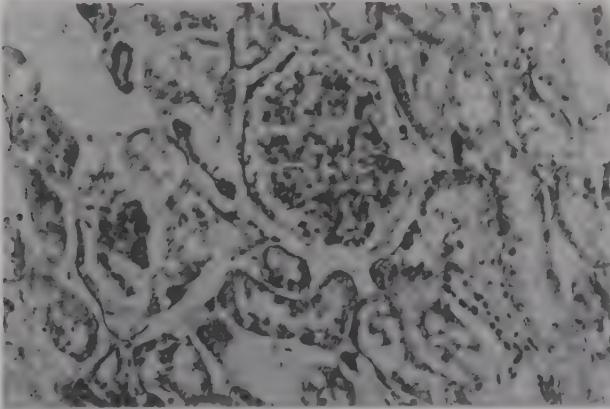


Abb. 11 b

Hundeniere (Nr. 801), 3 Tage hypotherme Luftaufbewahrung, keine Transplantation.

Nierenrindengewebe mit beginnenden Kernpyknoten der Glomerulaschlingen. Fortgeschrittener nekrotischer Zerfall der gesamten Hauptstückepithelien. Kernpyknoten in den distalen Nephronabschnitten. HE 250 x

3. Ergebnisse einer temporären Rezirkulation Xenon-konservierter Nieren in Form eines sog. Halsnierenpräparates

Die autologe Transplantation in die Fossa iliaca ist mit einer erheblichen Operationsbelastung verbunden, so daß eine längere Beobachtung des Organs nach Herstellung der Gefäßanastomosen nicht möglich ist. Um die kritische Phase der wieder einsetzenden Durchströmung des konservierten Organs mit Blut besser studieren zu können, die histologischen Veränderungen in dieser Phase zu erfassen und gegebenenfalls Funktionsstudien durchführen zu können, bedienten wir uns des sog. Halsnierenpräparates. Wie oben angegeben stellten wir die Gefäßverbindungen mit Payr-Kanülen oder Scribnershunteilen in Anlehnung an die von REINHARDT et al. mitgeteilten Technik her.

Wenngleich die operative Belastung der Tiere gering ist, so hat die Methode doch technische Fehlerquellen, die die Versuchsergebnisse beeinträchtigen. Insbesondere bei der Verwendung von Shuntteilen ist eine Lumeneinengung im Bereich des arteriellen Schenkels und damit eine Minderdurchblutung nicht sicher zu vermeiden. Die von REINHARDT untersuchten Halsnierenpräparate zeigten unter optimalen technischen Voraussetzungen nach einer fünfstündigen Erholungsphase ein normales Glomerulumfiltrat und Harnosmolarität und nur geringe Unterschiede in der Exkretion von Wasser, Natrium, Kalium, Harnstoff und Kreatinin im Vergleich mit der intakten kontralateralen Niere des Versuchstieres.

Insgesamt stellten wir in einer Reihe von acht Versuchen ein derartiges Halsnierenpräparat her (Tab. Nr. 10 .

Es handelte sich wiederum um hypotherm unter Xenon-Überdruck konservierte Nieren mit einer Konservierungszeit von 2 (4 Fälle), 4 und 8 Tagen. Als Kontrollversuche dienten zwei autolog ohne Konservierung direkt übertragene Nieren. Die Zirkulation dauerte zwischen 30 und 180 min und wurde dann aus technischen Gründe abgebrochen,

Tabelle Nr. 10

Versuche mit sogenannten Halsnierenpräparaten

Vers. Nr.	Konservierung Medium	Zeit	Zirkulationsdauer	Flüssigkeitsausscheidung	Histologie	Gefäßverbindung
711	keine	--	120 min	150 ccm	+ ja	Scribner
716	keine	--	160 min	265 ml	+ ja	Scribner
720	Xenon 2 atü	2 atü	75 min	10 ml	+ ja	PVC - Y - Stück (gedoppelte A. ren).
732	Xenon 2 atü	2 Tage	180 min	8 ml	+ ja	Payr
750	Xenon 2 atü	2 Tage	90 min	8 ml	+ ja	Payr, Naht
751	Xenon 2 atü	2 Tage	120 min	8 ml	nein	Scribner
719	Xenon 2 atü	4 Tage	60 min	5 ml	+ ja	Scribner
740	Xenon 2 atü	8 Tage	30 min	-- --	+ ja	Payr

willkürlich beendet oder limitierte sich durch Verschlechterung des Durchflusses. Nach Freigabe der Durchströmung zeigten alle Organe zunächst eine gute Durchblutung; die blassen, konservierten Nieren nahmen wieder eine natürliche Färbung und zunächst auch Konsistenz an. Nach wechselnden Zeitspannen - bei den 4-8 Tage konservierten Nieren nach 20-40 min, bei den kürzer konservierten Nieren nach 60 bis 120 min - kam es zu einer deutlichen Verschlechterung der Durchblutung. Die Konsistenz nahm zu, die Organe verfärbten sich blau-rot und zeigten schließlich kaum noch eine Durchblutung (gemessen am venösen Ausfluß), so daß die Perfusion abgebrochen werden mußte.

Die autolog transplantierten, nicht konservierten Nieren waren einschließlich der Perfusion insgesamt einer Ischaemiezeit von etwa 60 min ausgesetzt. Nach der Freigabe der Zirkulation kam es zu einer überschießenden Harnausscheidung mit 75 ml bzw. 99 ml/Std. Bei den konservierten Organen kam es nur zu einer sehr geringen Flüssigkeitsabsonderung (5-10 ml). Diese geringen Flüssigkeitsmengen konnten nicht als Grundlage für Funktionsuntersuchungen herangezogen werden.

Da sich bereits nach 2 tägiger Konservierungsdauer keine funktionell brauchbare Urinausscheidung erzielen ließ, wurde auf eine größere Zahl von Versuchen mit längerer Konservierungsperiode verzichtet.

Die histologischen Untersuchungsbefunde an Halsnierenpräparaten werden nachfolgend in der Reihenfolge von Tab. Nr. 10 aufgeführt.

Histologische Befunde an Halsnierenpräparaten

Nr. 711

Fast vollständig intaktes Nierenparenchym ohne Nekrosen.

Nr. 716 (Abb. 12)

Regelrechte Parenchymschichten. Weitlumige Harnkanälchen mit vergrößerter Gesamtfläche und abgeflachtem Epithel. Die Glomerula regelrecht. Das Interstitium etwas ödematös.

Beurteilung: Bis auf einen leichten Schockeffekt kein wesentlicher pathologischer Befund.

Nr. 720

Breite Parenchymschichten. Die Glomerula stark hyperämisch mit etwas verklumpten Schlingen. Stellenweise in den Kapseln ein blasses Präzipitat. Das Harnkanälchenepithel mit schaumiger Auflockerung. Die Kerne zumeist etwa pyknotisch. Im Markbereich sind die peritubulären Kapillaren stark hyperämisch. Auch die distaleren Nephronabschnitte mit einzelnen Eiweißzylindern und Kernpyknosen.

Beurteilung: Akute blutige Anschoppung. Beginnende diffuse Nekrose des Kanälchenepithels.

Nr. 732 (Abb. 13)

Histologisch in verschiedenen Schnitten regelrecht breite Parenchymschichten. Die Glomerulumschlingen teilweise etwas miteinander verbacken. Ihre Lumina weitgehend kollabiert. In den Kapselräumen eiweißarme Präzipitate. Die Harnkanälchen mit ziemlich weiten Lumina. Das Harnkanälchenepithel teilweise etwas vakuolig aufgelockert. Die Kerne überall gut erhalten. In den tieferen Nephronabschnitten immer wieder eiweißreiche Zylinder. Die Rinde ischaemisch. Die peritubulären Kapillaren im Mark- und Papillenbergereich hyperämisch.

Beurteilung: Gut erhaltenes Nierenparenchym mit Zeichen der Albuminurie bzw. Proteinurie und eines leichten Schockeffektes.

Nr. 750 (Abb. 14, 15)

Stark ödematöses Nierenparenchym. Die Kanälchen durch das Ödem auseinander-
gedrängt. Die Glomerula unauffällig. Das Kanälchenepithel mit beginnenden Kernpyk-
nosen. Vereinzelt auch komplette Epithelnekrose.

Beurteilung: Mäßig gut erhaltenes Parenchym mit schwerem akutem Ödem.

Nr. 719 (Abb. 16)

Stark hyperämische, teilweise ödematöse breite Parenchymschichten. Die Glomerula,
die nicht hyperämisch sind, zeigen offene Schlingenlumina. Das Kanälchenepithel
zumeist gebläht und aufgelockert, mit pyknotischen Kernen. Nur hin und wieder noch
weitgehend erhaltenes Kanälchenepithel. Auch in den distaleren Nephronanteilen
diffuse Kernpyknosen.

Beurteilung: Weitgehend diffuse beginnende Nekrose des Harnkanälchenepithels.
Herdförmige blutige Anschoppung. Nur kleine Bezirke etwas besser erhaltenen Paren-
chyms.

Nr. 740 (Abb. 17)

Weitgehend nekrotische Parenchymschichten mit Hämorrhagien. Die nur noch
schattenhaft erkennbaren Kanälchen ödematös auseinandergedrängt.

Beurteilung: Fast vollständige Nekrose des Nierenparenchyms mit keilförmiger
hämorrhagischer Infarcierung.

Die autolog transplantierten, nicht konservierten Nieren (Nr. 711, 716) weisen intaktes
Nierenparenchym mit allenfalls etwas interstitiellem Ödem auf. Die gute Harnsekre-
tion findet durch die geringen morphologischen Veränderungen ihre Bestätigung.

In der Gruppe der 2 Tage konservierten Niere (720, 732, 750, 751) finden sich unauf-
fällige Glomerula bzw. teilweise miteinander verbackene Glomerulumschlingen. Das
Harnkanälchenepithel zeigt schaumige Auflockerung, teilweise auch beginnende Kern-
pyknosen und komplette Epithelnekrosen. Im Markbereich fällt eine starke Hyperämie
der peritubulären Kapillaren auf. Als morphologisch auffällig wenig verändert er-
weist sich Nr. 732, mit überall gut erhaltenen Kernen.

Insgesamt ist der Schädigungsgrad dieser Gruppe nicht ganz so stark ausgeprägt wie
in der Gruppe der transplantierten Nieren mit kurzer Verweildauer (Nr. 723, 724,
733, 722, 714).

Die beiden 4 bzw. 8 Tage konservierten Organe weisen hingegen erhebliche Nekrosen
des Harnkanälchenepithels auf, sowie Kernpyknosen und hämorrhagische Infarzierungen.
Eine Vitalität ist bei diesen ausgedehnten morphologischen Zerstörungen nicht mehr
anzunehmen.

Der Grad der morphologischen Veränderungen läßt es schwierig erscheinen, den Funktionsausfall der Schädigung einzelner Strukturen zuzuordnen. Anhand der Gruppe der zwei Tage konservierten und weniger stark geschädigten Nieren (720, 732, 750, 751) soll dazu Stellung genommen werden.

Grundsätzlich wird von der Annahme ausgegangen, daß der Mechanismus der Funktionsstörung der konservierten Niere ein ähnlicher ist, wie bei der tierexperimentellen Ischaemieniere. Nach Untersuchungen von ROTTER sowie KABOTH antwortet die Nager-Niere bereits nach kurzer Ischaemiezeit (bis 1 Std.) mit einer 12 - 24 Std. dauernden Oligurie, manchmal sogar Anurie, die von einer länger dauernden Phase der Polyurie gefolgt ist. Wie auch aus der klinischen Erfahrung bei der Nierentransplantation sowie bei organerhaltenden Eingriffen am Nierenparenchym mit temporärer Unterbrechung der Zirkulation bekannt ist, kommt es bereits nach relativ kurzen Abklemmzeiten (20 - 40 min) zu einem sofortigen Funktionsausfall, der sich über mehrere Tage erstrecken kann. Wir selbst konnten nach der homologen Transplantation einer sechs Stunden hypotherm gelagerten Niere eine 26-tägige Anurie beobachten, ehe sich die Funktion des Transplantates nach einer initialen Polyurie normalisierte (VOSS).

Von THOENES werden die Folgen der Ischaemie für die Funktion der Niere anhand mikromorphologischer Untersuchungen des Nephron nach temporärer Ischaemie sehr eingehend diskutiert. Legt man die Ludwig-Cushny-Smithsche Theorie der Harnbereitung zugrunde, so kann eine stark verringerte oder fehlende Harnproduktion grundsätzlich auf zweierlei Weise zustandekommen. Entweder ist die Filtration gehemmt oder der in das Tubulussystem abgeschiedene Primärharn wird, ehe er das Pylon erreicht, vollständig aus den Harnkanälchen entfernt. Für eine stärkere Rückdiffusion des Tubulusharns durch das Tubulusepithel ergab sich am Modell der Ischaemieniere kein Anhalt. Auch wenn man die stärkere Epithelschädigung der konservierten Niere zugrundelegt, dürfte diesem Mechanismus nur eine untergeordnete Bedeutung zukommen. Dagegen spricht auch die für die Ischaemieniere charakteristische diffuse Tubulusdilatation, die am Tubulusapparat der konservierten Niere in gleicher Weise nachweisbar ist.

Als entscheidender Faktor muß demnach eine Störung in der Filtration angesehen werden. Bei der morphologischen Beurteilung der konservierten Nieren fällt immer wieder der relativ gute Erhaltungszustand der Glomerula zumindest im lichtmikroskopischen Bereich auf, so daß eine glomerulogene Schädigung im Sinne einer Permeabilitätsstörung im Bereich der glomerulären Blut-Harn-Schranke weniger wahrscheinlich erscheint. So ist einer präglomerulären Schädigung im Sinne einer vaskulären Hemmung der Filtration das Hauptgewicht beizumessen. Die Drosselung der Blutzufuhr könnte durch funktionelle oder organische Alteration der Nierengefäße bedingt sein. Es ist dabei aber zu berücksichtigen, daß eine vasogene Filtrationsstörung ihrer Natur nach nicht notwendig ein morphologisches Substrat aufzuweisen braucht; denn Änderungen im funktionellen Verhalten sind gerade im Falle der Gefäßmuskulatur durchaus ohne Störung der zellulären Feinstruktur denkbar (THOENES). Unter den organischen Faktoren ist die hohe Empfindlichkeit der Gefäßmuskulatur gegen ischaemische Bedingungen in Rechnung zu ziehen, die eine vermehrte Gefäßpermeabilität zur Folge hat. Zu einer weiteren Drosselung der Blutzufuhr könnte eine Kompression der intrarenalen Gefäße durch ein interstitielles Ödem und Zellhydrops führen. Für die konservierte Niere ist ein Zustand der energetischen Insuffizienz anzunehmen, der seinerseits über Versagen der Natriumpumpe zu Zellschwellung und erhöhter Membranpermeabilität führt (COHEN u. FOLKMAN).

Die Annahme einer im Vordergrund stehenden vaskulären Schädigung kann gut mit den Beobachtungen am Halsnierenpräparat in Einklang gebracht werden, kam es doch nach Freigabe der Zirkulation bei den konservierten Nieren relativ frühzeitig zu einer Minderung der Durchblutung, die schließlich den Versuch limitierte. Die erhebliche Schädigung des Tubulusapparates nach der Konservierung mit Kernpyknosen und teilweisen Nekrosen des Harnkanälchenepithels soll nicht verkannt werden. Für den initialen Funktionsausfall nehmen wir aber - ähnlich wie bei der tierexperimentellen Ischaemieniere - als wesentlichsten Faktor eine vaskuläre Schädigung an.

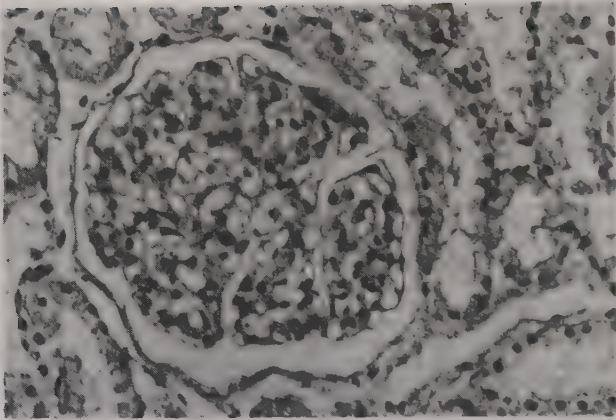


Abb. 12

Hundeniere (Nr. 716), Halsnierenpräparat ohne Konservierung.
Gut erhaltenes normales Nierenparenchym. HE 310 x

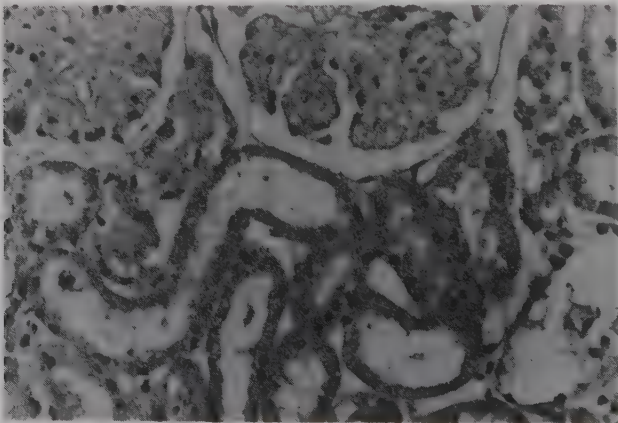


Abb. 13

Hundeniere (Nr. 732), Halsnierenpräparat, 2 Tage hyperbare Xenon
konservierung. Gut erhaltenes Nierenparenchym mit Zeichen einer
leichten Schockniere. HE 310 x

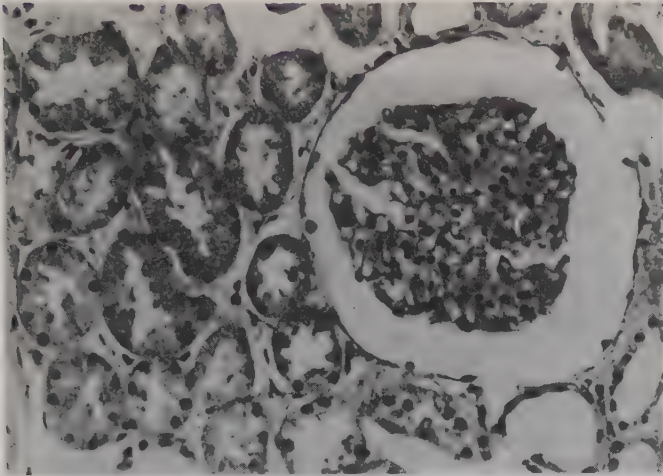


Abb. 14

Hundeniere (Nr. 750), Halsnierenpräparat, 2 Tage hyperbare Xenonkonservierung.

Rindenbezirk. Erhebliches Ödem, Glomerula unauffällig. Beginnende Kernpyknosen. HE 310 x

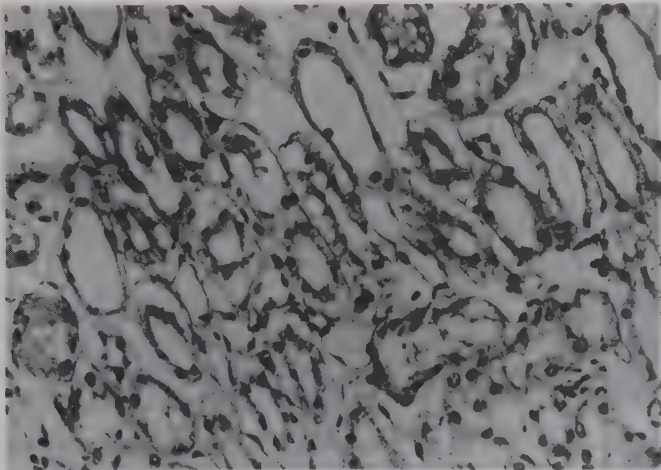


Abb. 15

Hundeniere (Nr. 750), Halsnierenpräparat, 2 Tage hyperbare Xenonkonservierung.

Markbezirk. Stark ödematöses Nierenparenchym. Beginnende Kernpyknosen, vereinzelt auch komplette Epithelnekrosen. HE 310 x

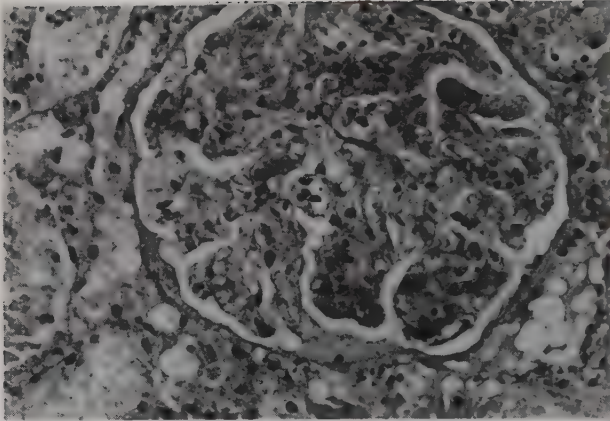


Abb. 16

Hundeniere (Nr. 719), Halsnierenpräparat, 4 Tage hyperbare Xenonkonservierung.

Nierenrinde mit verklumpten Glomerulumschlingen, beginnender entzündlicher Infiltration der Schlingen und wechselnd ausgeprägten Tubuluszellnekrosen mit Kernpyknosen.

HE 310 x

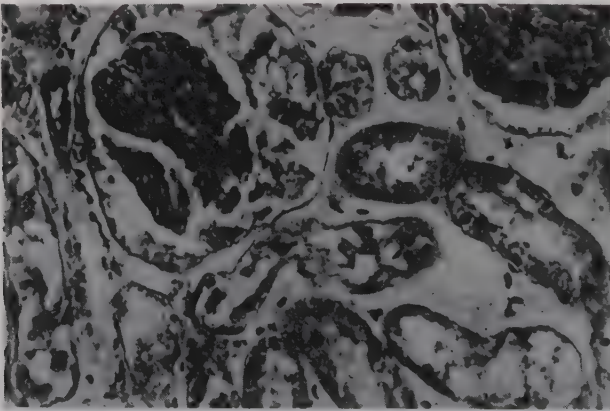


Abb. 17

Hundeniere (Nr. 740), Halsnierenpräparat, 8 Tage hyperbare Xenonkonservierung.

Nierenrindengewebe mit teils älteren, teils frischeren Tubuluszellnekrosen, kollabierten Glomerulumschlingen und dichten Glomerulumkapselpräzipitaten sowie ausgeprägtem interstitiellem Ödem.

HE 310 x

VII. Diskussion

Bei den vorliegenden Untersuchungen an der Hundeniere gelang es nicht, den initialen ATP-Verlust zu verhindern. Aus früheren Untersuchungen (VOSS und RUILE) und aus Angaben in der Literatur (THORN et al. , GERLACH et al.) ist uns bekannt, daß die Niere bereits nach 15 sec Ischaemie etwa 40 % ihres ATP-Bestandes verliert. Es erstaunte deshalb keineswegs, daß nach der 30-minütigen Perfusion, auch wenn sie unter Edelgasatmosphäre erfolgte, die gefundenen ATP-Konzentrationen sehr gering waren. Da die initiale Perfusion einen wesentlichen Bestandteil der klinisch anwendbaren Konservierungsverfahren darstellt, ist diese Maßnahme derzeit nicht zu umgehen. Sie ermöglicht die Freispülung des Gefäßsystems und eine rasche Abkühlung des Organ-kerns. Bei den oben zitierten Versuchen an der wesentlich kleineren Kanin-chenniere dagegen wurden die Organe noch in situ freigespült und sofort unter Xenon-Überdruck gebracht.

Die eigentliche Überdruck-Konservierung der Hundenieren setzte damit erst ein, wenn nach 30 Minuten die initiale Perfusion beendet war. Bezogen auf den ATP-Gehalt stellt das bereits eine sehr ungünstige Ausgangsposition dar. Methodisch ist dem in wenigen Sekunden erfolgenden ATP-Verlust wohl kaum zu begegnen. Andererseits ist aber aus dem Gesamt-Bestand der Adeninnukleotide eine rasche Resynthese des ATP nach Wiederdurchblutung möglich. Betrachtet man deshalb die Konzentrationen der übrigen Adeninnukleotide nach der initialen Perfusion, so zeichnen sich günstigere Bedingungen ab. Es kommt zwar auch zu einem merklichen ADP-Schwund, beim AMP findet sich aber eine deutliche Anreicherung. Dabei läßt sich unter Xenonkonservierung gegenüber Luft eine signifikant höhere AMP-Konzentration registrieren. Gerade durch diese Anreicherung des AMP ist auch der Gesamtbestand der Adeninnukleotide nach 30 Minuten noch sehr erheblich und liegt bei Xenon-Konservierung noch bei 68,1 % des Ausgangswertes.

Vom Herzen, das hinsichtlich des Energiestoffwechsels wesentlich intensiver als die Niere untersucht wurde (BRETSCHNEIDER, FLECKENSTEIN, SCHOEN, SIESS) weiß man, daß eine Wiederaufnahme der Funktion bei einer ATP-Konzentration von über 40 % des Ausgangswertes als sicher anzunehmen ist. Zwei-

felllos ist aber auch bei der Niere die Erhaltung eines gewissen Bestandes an Adeninnukleotiden zur Aufrechterhaltung des Strukturstoffwechsels und damit zur Erhaltung der Vitalität erforderlich.

Unter Bezug auf die festgestellten Konzentrationen an AMP und Gesamt-AN ist auch bei der Hundeniere der an der Kaninchenniere beobachtete Konservierungseffekt reproduzierbar. Nach 48 Stunden liegen der AMP-Gehalt und die Konzentration an Gesamt-AN bei der hyperbaren Xenonkonservierung signifikant über den Konzentrationen nach hypothermer Luftkonservierung. Die Vergleichsserie einer hypothermen Druckluftkonservierung, die zum Ausschluß eines alleinigen Druckeffektes angelegt wurde, zeigte einen Anstieg von AMP und Gesamt-AN gegenüber Luft; diese Unterschiede waren jedoch nicht signifikant. Andererseits bestand jedoch auch kein signifikanter Unterschied gegenüber der hyperbaren Xenonkonservierung. Es stellt sich dabei die grundsätzliche Frage, inwieweit dieser Konservierungseffekt mediumspezifisch ist und in welchem Maße der angewandte Druck eine Rolle spielt. Bei jedem hyperbaren Organkonservierungsverfahren besteht eine Druckabhängigkeit, da die Durchdringung des Organs mit dem Medium bei steigendem Gasdruck schneller erfolgt. Die Permeationsgeschwindigkeit ist dabei vom Medium, von der Schichtdicke und Gewebsart abhängig. Die verminderte Effektivität der hyperbaren Xenonkonservierung bei der relativ großen Hundeniere im Gegensatz zur Kaninchenniere wird daraus teilweise erklärbar.

Die Druckerhöhung bewirkt jedoch nicht in jedem Falle eine Verbesserung des Konservierungseffektes. Wie wir bei früheren Untersuchungen an der Kaninchenniere nachweisen konnten (Tab.Nr. 1), kommt es bei einer Erhöhung des Sauerstoffdruckes von 0,4 auf 3 atü zu einem Verlust der Gesamt-AN um knapp 50 %. Dagegen bewirkt eine Druckerhöhung von 0,4 auf 2,7 atü bei reinem Stickstoff eine deutliche Erhöhung der Gesamt-AN. Die Ursache für das unterschiedliche Verhalten der Adeninnukleotide liegt vermutlich darin, daß es während der Anoxie unter reinem Stickstoff zu einer gesteigerten anaeroben Glykolyse kommt (Pasteur-Effekt), während bei reiner Sauerstoffkonservierung bei einer Druckerhöhung auf 3 atü die anaerobe Glykolyse nicht in Gang kommt und dementsprechend auch kein Laktat nachweisbar ist. Das Xenon erwies sich in den oben zitierten Versuchen an den Kaninchenniere einer hyperbaren Stickstoffkon-

servierung überlegen. Es ist aber denkbar, daß durch Zusatz von 20 % Sauerstoff zu Stickstoff eine Umstellung der anaeroben Glykolyse auf einen minimalen aeroben Stoffwechsel bewirkt werden kann, was eine Verbesserung der Ergebnisse bringen könnte. Auch HEROLD konnte bei Konservierungsversuchen am isolierten Meerschweinchen-Herzvorhof die Ergebnisse einer reinen Xenonkonservierung durch Sauerstoffzusatz verbessern. Der nicht signifikante Unterschied zwischen der hyperbaren Xenonkonservierung und der Druckluftkonservierung ist möglicherweise auf den Sauerstoffanteil der Druckluft zurückführbar. Der Versuch, durch eine Äquilibration des Perfusates mit Xenon die Durchdringung des Organs mit Xenon zu beschleunigen und zu verbessern, erwies sich am Verhalten der Adeninnukleotide als wenig effektiv, obgleich die Wasserlöslichkeit von Xenon wesentlich besser ist als die von Sauerstoff. Xenon hat einen Bunsenkoeffizienten von 1,7 in Öl, von 0,085 in Wasser (bei 37° C) und damit ein Öl-Wasser-Verhältnis von 20,0. Die Wasserlöslichkeit von Sauerstoff beträgt dagegen bei 37° C nur 0,024.

Die Bestimmung der Adeninnukleotide in verschiedenen Gewebsschichten ergab entsprechend den Angaben in der Literatur (GERLACH et al.) einen höheren Gehalt an ATP in der Rinde als im Mark (Unterschied nicht signifikant). Bei wenig unterschiedlichen ADP- und AMP-Konzentrationen erhöht sich dadurch auch der Bestand der gesamten Adeninnukleotide in der Rinde. Nach 30 Minuten Ischaemie - zum Ende der initialen Perfusion - stellt sich die ATP-Konzentration in Rinde und Mark etwa auf die gleiche Höhe ein. Bei gleichem ADP-Gehalt liegt die AMP-Konzentration in der Rinde gegenüber dem Mark signifikant höher. Ein entsprechender Befund - allerdings nur unter Xenonatmosphäre signifikant - läßt sich für die Gesamt-AN registrieren. Diese Verteilung der Adeninnukleotide ist weder durch Perfusion in Xenonatmosphäre noch durch ein mit Xenon angereichertes Perfusat entscheidend zu beeinflussen. Nach 48 Stunden Konservierung findet sich kein wesentlicher Schichtunterschied mehr. Lediglich beim ADP findet sich nach 48 Stunden ein signifikanter Unterschied unter Luftkonservierung.

Diese Abweichung können wir nicht interpretieren.

Die chemische Bestimmung von Xenon in Geweben ist diffizil und nur unter großem Aufwand möglich (Trennung und Bestimmung von Krypton-Xenon-Gemischen nach KAHLE). Wir beabsichtigen deshalb, mit Hilfe von radioaktiv markiertem Xenon

näheren Aufschluß über Permeation und Verteilung von Xenon in konservierten Organen zu erhalten.

Am Testobjekt des isolierten, spontanschlagenden Meerschweinchenvorhofs wurden am Pharmakologischen Institut der Universität Marburg Konservierungsversuche mit verschiedenen Gasgemischen durchgeführt (HEROLD). Anhand von Funktionsstudien sowie aufgrund von licht- und elektronenmikroskopischen Befunden (BREITHARDT et al.) ließ sich eine deutliche lebensverlängernde Wirkung unter einem Xenon-Sauerstoffgemisch der Relation 80 : 20 registrieren. Entscheidend ist dabei die Feststellung, daß am Herzen die konservierende Wirkung von Xenon nur bei gleichzeitiger Anwesenheit von Sauerstoff zu sichern ist. Eine Konservierung unter 100 % Xenon (1,5 atü) zeigt dabei keine wesentliche Verbesserung der Ergebnisse gegenüber den gleichen Versuchen unter 100 % Stickstoff.

Es ist dabei zu berücksichtigen, daß am Herzmuskel andere Ausgangsbedingungen vorliegen als an der Niere. Das Herz besitzt beachtliche Glykogenreserven, und nach Beginn der Ischaemie wird zunächst der ATP-Bestand durch Ausschöpfung des Phosphokreatins im steady state gehalten.

Es sollte deshalb durch weitere Versuche geklärt werden, ob der Konservierungseffekt des Xenon an der Niere durch Zusatz von geringen Sauerstoffmengen nicht ebenfalls verbessert werden kann. Orientierende Untersuchungen an der Kaninchenniere mit einem Gemisch von 80 % Xenon und 20 % Sauerstoff (2 atü, 20°C, 8 Tage) ergaben einen Anstieg der AMP-Konzentration sowie einen erhöhten Gesamtbestand an Adeninnukleotiden.

Außerdem zeigten die Laktatbestimmungen unter diesen Bedingungen, daß die Glykolyserate wesentlich geringer war. Die Interpretation dieser Befunde ergibt Beziehungen zu den Angaben von VAN ZYL et al., der mit einem hyperbaren Helium-Sauerstoffgemisch (95 % : 5 %) den besten Konservierungseffekt erzielen konnte.

Der Wirkungsmechanismus von Xenon ist bis heute nur hypothetisch zu erklären. Ein Narkoseeffekt ist bekannt (CULLEN, MORRIS). Es muß jedoch noch ein anderer Wirkungsmechanismus vorliegen, da die narkotische Wirkung von Xenon nicht besser als die von Stickoxydul ist, der Konservierungseffekt des Xenons nach vorhergehenden Untersuchungen den des Stickoxyduls erheblich

übertrifft. Die hohe Lipidlöslichkeit von Xenon könnte im molekularen Bereich der Membran - mit deren hohem Lipoidgehalt - stabilisierend wirken, worauf einige frühere elektronenoptische Untersuchungen (VOSS et a.) hindeuten.

Wir nehmen an, daß Xenon aufgrund seiner Narkosewirkung, seiner guten Lipidlöslichkeit und Wasserlöslichkeit trotz seiner wahrscheinlich chemisch völligen Reaktionslosigkeit Stoffwechselschritte durch Hemmung des Stoff - wechselfaustauschs zwischen den verschiedenen Zellkompartimenten blockiert. Außerdem könnte es möglicherweise endergonisch ablaufende Zellmotilitäten und Zytoplasmaströmungen reduzieren.

Die zur Ergänzung der biochemischen Untersuchungen durchgeführten Transplantationsversuche sowie die Untersuchungen an den Halsnierenpräparaten konnten den Beweis für die Effektivität der hyperbaren Xenonkonservierung nicht erbringen. In beiden Versuchsreihen ließen sich sehr erhebliche morphologische Veränderungen im Sinne von Epithelnekrosen, Kernpykrosen und hämorrhagischen Infarzierungen nachweisen, die die Überlebenschance dieser konservierten Organe als sehr gering erscheinen ließen. Wenngleich die transplantierten Organe nach der Rezirkulation zunächst eine gute Durchblutung aufwiesen, so scheint uns doch eine primär vaskuläre Schädigung als entscheidender Faktor den morphologischen Veränderungen zugrunde zu liegen. Für diese vaskuläre Schädigung sprechen die histologischen Untersuchungen, die an konservierten Nieren vor der Transplantation vorgenommen wurden. Das Parenchym dieser Nieren, die drei Tage unter Xenon-Überdruck hypotherm aufbewahrt wurden, zeigt einen relativ guten Erhaltungszustand, die Glomerula sind weitgehend unauffällig, ein Ischaemieschaden deutet sich jedoch bereits durch das Auftreten von Kernpykrosen an. Nach der neuerlichen Perfusion zeigten diese Nieren ein massives interstitielles Ödem, das sich auch auf die Muskulatur der größeren Arterien ausdehnt.

Vergleichende histologische Untersuchungen an Nieren, die über den gleichen Zeitraum unter Luft aufbewahrt wurden, ließen noch ausgeprägtere ischaemische Veränderungen erkennen.

Über ähnliche Befunde berichtete H.W.WEBER (Kapstadt) auf dem Deutschen Kongress für Pathologie in Berlin 1970. Er stellte gleichfalls eine vaskuläre

Schädigung nach hyperbarer Heliumkonservierung, die eine Wiederaufnahme der Funktion und eine erfolgreiche Transplantation verhinderte, in den Vordergrund. Gezielte histologische Gefäßuntersuchungen unter diesen Konservierungsbedingungen stehen allerdings noch aus.

Während bei der hyperbaren Organkonservierung der Kaninchenniere noch eine gewisse Korrelation zwischen biochemischen und histologischen Befunden zu erkennen war, scheint bei der vorliegenden Versuchsanordnung diese Beziehung bei Hundenieren nicht zu bestehen, zumindest dann nicht, wenn man die erfolgreiche Transplantation nach der Konservierung als Kriterium zugrunde legt.

Der biochemische Konservierungseffekt ist an der Hundeniere geringer als an der Kaninchenniere. Diese Diskrepanz könnte dadurch erklärt werden, daß ein Gasdruck von 2 atü bei der relativ kleinen Kaninchenniere ausreicht, für die größere Hundeniere jedoch nicht genügt. Wie wir und auch die Arbeitsgruppe in Marburg (SIESS, HEROLD) nachweisen konnten, ist der Konservierungseffekt druckabhängig. Möglicherweise könnte also durch eine Erhöhung des Konservierungsdruckes eine Verbesserung erzielt werden.

Betrachtet man zusammenfassend unsere Versuchsergebnisse, so wird evident, daß es, beginnend mit der Organentnahme, rasch zu einer Reduzierung des gesamten Adeninnukleotidbestandes in der Niere kommt, und zwar bevor der stoffwechselhemmende Effekt der Hypothermie voll zur Wirkung kommt und ehe die Xenonüberdruckkonservierung einsetzen kann. Von diesem erniedrigten Nukleotidniveau ausgehend ist die Effektivität der Xenonkonservierung relativ eng begrenzt. Da es wahrscheinlich nicht gelingen kann, den Energieverlust in den ersten Sekunden und Minuten zu verhindern, könnte durch Zufuhr von Sauerstoff und Substrat versucht werden, für die Phase der initialen Perfusion einen Energiepool aufzubauen. Darüberhinaus sollte man die initiale Kühlperfusion in einer Überdruck-Perfusionskammer unter gleichzeitiger Oberflächenkühlung durchführen, um die hyperbare Xenonkonservierung bereits während der Perfusion zum Einsatz zu bringen. Neben der Ermittlung eines optimalen Gasdrucks muß weiterhin geklärt werden, ob durch Beimischung geringer Sauerstoffmengen der Konservierungseffekt noch verbessert werden kann. Da die Stoffwechselaktivität und damit der Verlust an energiereichen Phospha-

ten unter Hypothermie gebremst wird, bietet sich als weitere Möglichkeit an, die Konservierungstemperatur rasch und extrem zu senken, d.h. eine Gefrierkonservierung vorzunehmen. Orientierende Untersuchungen mit diesem Verfahren haben uns gezeigt, daß eine hyperbare Gefriertechnik wenigstens zum Teil die Gefrierschäden vermeiden und die auftretenden Schäden beim Wiederauftauen beeinflussen kann (RUILE et al., VOSS et al.). Bei diesen Versuchen ließen sich ebenfalls mediumspezifische Unterschiede nachweisen. Die biophysikalischen Probleme der hyperbaren Gefrierkonservierung sind allerdings nur schwer zu meistern. Sollte es jedoch gelingen, die Gefrierläsionen vollständig zu verhindern, wäre uns eine Möglichkeit in die Hand gegeben, eine ideale Langzeitkonservierung von Organen zu verwirklichen.

VIII. Zusammenfassung

An Hundenieren wurde die Wirksamkeit einer hypothermen (6°C) Xenonüberdruckpreservation (2 atü) nach Konservierungszeiten von 2 bis 8 Tagen untersucht. Neben biochemischen Untersuchungen wurden Halsnierenpräparate zur Beurteilung der Frühfunktion und autologe Transplantationen in die Fossa iliaca vorgenommen.

Die biochemischen Untersuchungen lassen einen Konservierungseffekt des Xenons erkennen, der sich in der Hauptsache an der signifikanten Erhöhung des AMP und der Gesamtadeninnukleotide nach einer Zeit von 48 Stunden manifestiert.

Unterschiedliche Konzentrationen in den verschiedenen Gewebsschichten fanden sich beim AMP zum Ende der initialen Perfusion, eine Abhängigkeit von der Konservierung konnte nicht objektiviert werden.

Die Anreicherung des Perfusats mit physikalisch gelöstem Xenon bewirkte keine höhere Effektivität des Verfahrens. Nach Anschluß der konservierten Nieren als Halsnierenpräparate konnte keine Frühfunktion ermittelt werden, da keine ausreichende Sekretproduktion im beobachteten Zeitraum erfolgte. Die autologen Transplantate in die Fossa iliaca fielen nach relativ kurzer Zeit der Nekrose anheim.

Die histologischen Untersuchungen der konservierten Nieren vor der Transplantation zeigten noch einen relativ guten Erhaltungszustand, nach der Perfusion ließ sich jedoch ein erhebliches interstitielles Ödem nachweisen. Die transplantierten Nieren wiesen, insbesondere nach längerer Verweildauer in situ, erhebliche nekrotische Veränderungen auf. Das angewandte Verfahren ist unter den vorliegenden Versuchsbedingungen nicht in der Lage, eine erfolgreiche Nierenkonservierung zu gewährleisten. Die Ergebnisse geben jedoch den Anstoß zu gezielten Änderungen der Methode, die den Konservierungseffekt verbessern könnten.

IX. Tabellenanhang

Tabelle Nr. 11

Gruppe Nr. 1

Medium : Luft
Zeit : 0 - 15 sec
Druck : normal
Angaben in nMol/g Trockengewicht

Temperatur : Körpertemperatur
Perfusion : keine
Schichtunterteilung : Rinde / Mark

A T P		A D P		A M P		Gesamt - A N	
Rinde	Mark	Rinde	Mark	Rinde	Mark	Rinde	Mark
2141,2	565,0	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
1587,0	427,0	772,4	1408,1	155,8	448,5	2515,2	2283,6
891,1	1923,4	- - -	1757,3	96,0	- - -	- - -	- - -
- - -	138,2	- - -	1757,3	- - -	886,3	- - -	- - -
7216,8	2584,6	2134,4	4019,8	1200,8	1923,6	11152,0	8528,0
6754,8	2662,2	2658,7	3202,4	1341,0	1828,5	10754,5	7693,1
3492,2	4158,0	1907,5	2713,2	541,1	524,1	5940,8	8665,2
5059,6	4491,3	2698,3	2473,4	907,3	566,1	7395,3	7800,8
4966,1	3551,2	4175,3	3432,5	701,9	765,6	9843,3	7749,3
4026,5	4289,8	3978,2	2768,4	860,0	630,5	8864,7	7688,7
9	10	7	9	8	8	7	7
Mittelwert							
4015,0	2479,0	2618,0	2615,0	800,5	946,7	8067,0	7201,0
Stand. Abw.							
737,8	527,1	448,0	287,9	202,5	208,7	1158,0	834,2

Tabelle Nr. 12

Gruppe Nr. 2

Medium : Luft
Zeit : 0 sec
Druck : Normal
Angaben in nMol/g Trockengewicht

Temperatur : Körpertemperatur
Perfusion : keine
Schichtunterteilung : keine

A T P	A D P	A M P	Gesamt - AN
5000	3440	1090	9530
5925	3230	808	9963
4980	3220	1260	9460
3240	3400	1690	8330
4710	3360	1030	9100
6000	3720	1190	10910
4420	3120	980	8520
5800	3080	770	9650
6080	3960	1230	11270
4870	3220	1080	9170
6370	3160	2040	11570
6280	3460	2370	12110
5050	2080	365	7495
7020	2520	295	9835
5500	3200	1010	9710
4800	3520	1030	9350
Mittel- wert	3231	1140	9748
Stand. Abw.	924	534	1218

Tabelle Nr. 13

Medium: Luft
Zeit : 30 min
Druck : normal

Temperatur

: 6° C

Perfusion : Fresenius Standard
Schichtunterteilung : Rinde / Zwisch./Mark

Gruppe Nr. 3

Gesamt - A N

A T P

A D P

A M P

Rinde	Zwischen- schicht	Mark	Rinde	Zwischen- schicht	Mark	Rinde	Zwischen- schicht	Mark	Rinde	Zwischen- schicht	Mark
371,0	406,0	622,0	885,9	775,0	1187,1	2633,3	1353,0	523,6	3890,2	2534,0	2332,7
437,0	661,0	345,0	801,5	1735,0	694,6	2667,7	2750,5	445,0	3906,2	5146,5	1484,6
---	---	---	362,9	376,7	1185,9	---	266,0	1522,5	---	---	---
52,5	309,1	44,4	716,8	351,1	1461,0	1707,3	2922,5	1247,0	2476,6	3582,7	2752,4
113,6	181,8	29,6	1147,0	974,9	900,3	3399,5	1620,3	1305,8	4660,1	2776,9	2235,7
852,8	1487,9	1117,3	1776,0	2227,1	2493,2	3583,3	854,7	447,1	6212,1	4569,7	4057,6
947,1	944,2	1109,3	2283,6	1707,7	1337,5	445,0	626,3	398,6	3675,7	3278,2	2845,4

n = 6

6

6

7

7

7

6

7

7

6

6

6

Mittel-
wert

462,3	665,0	544,6	1139,0	1164,0	1323,0	2406,0	1485,0	841,4	4137,0	3648,0	2618,0
-------	-------	-------	--------	--------	--------	--------	--------	-------	--------	--------	--------

Stand.
Abw.

370,4	198,5	491,6	667,6	732,5	577,3	1168,0	1027,0	492,2	1238,0	1023,0	854,9
-------	-------	-------	-------	-------	-------	--------	--------	-------	--------	--------	-------

Tabelle Nr. 14

Gruppe Nr. 4

Medium : Xenon
Zeit : 30 min
Druck : normal
Angaben in n Mol/g Trockengewicht

Temperatur : 6° C
Perfusion : Fresenius Standard
Schichtunterteilung : Rinde/Zwisch./Mark

	A T P			A D P			A M P			Gesamt - A N		
	Rinde	Zwischen- schicht	Mark	Rinde	Zwischen- schicht	Mark	Rinde	Zwischen- schicht	Mark	Rinde	Zwischen- schicht	Mark
----	----	544,9	240,4	747,6	1737,2	1049,9	1579,2	1853,7	741,4	----	4135,8	2031,7
272,3	779,0	440,0	2040,1	1987,0	1412,3	8080,4	2963,1	1132,4	10392,8	5729,1	2984,7	
310,8	79,5	127,8	1456,7	1137,6	968,3	3900,1	3282,3	2651,4	5667,6	4499,4	3747,5	
110,5	151,4	291,2	1196,3	1074,5	1347,5	3017,1	3108,1	865,0	4323,9	4334,0	2503,7	
287,8	711,6	274,9	1362,1	1550,9	1431,5	2438,9	2635,1	2231,7	4088,8	4897,6	3938,1	
192,5	304,7	50,2	1722,8	2229,9	1999,9	6183,1	5042,1	3218,4	8098,4	7576,7	5268,5	
141,3	251,3	53,0	2207,7	2140,7	1555,1	5770,3	5118,8	2352,3	8119,3	7510,8	3960,4	
195,8	268,9	188,1	2217,8	2506,1	2492,2	6068,3	5411,9	2110,0	8445,9	8555,0	4790,3	
n =	7	8	8	8	8	8	8	8	7	8	8	
Mittel- wert	210,7	386,4	208,2	1619,0	1795,0	1532,0	4630,0	3677,0	1913,0	7020,0	5905,0	3653,0
Stand. Abw.	29,9	91,9	46,6	185,3	182,5	176,8	789,8	469,6	318,0	892,7	612,6	389,2

Tabelle Nr. 15 Medium : Xenon Temperatur : 6° C
Gruppe Nr. 5 Zeit : 30 min Perfusion : Fresenius Standard. Xenon durchperlit
 Druck : normal Schichtunterteilung : Rinde / Zwisch. / Mark
 Angaben in nMol/g Trockengewicht

Rinde	A T P			A D P			A M P			Gesamt- A N		
	Zwischen- schicht	Mark	Rinde	Zwischen- schicht	Mark	Rinde	Zwischen- schicht	Mark	Rinde	Zwischen- schicht	Mark	Rinde
46,5	155,6	236,2	1722,3	1514,8	1520,7	3502,1	2886,8	1218,3	5270,9	4557,2	2975,2	
460,5	64,0	27,1	1487,0	1801,9	1361,1	4164,1	3844,7	1560,4	6111,6	5510,6	2948,6	
132,7	71,3	93,5	1842,7	1822,2	1872,1	3675,7	3302,4	1608,0	5651,1	5195,9	3573,6	
165,2	51,4	69,4	1429,8	1800,3	1736,8	2749,7	3804,3	1911,3	4344,7	5656,0	3717,5	
349,0	951,6	310,1	2091,4	964,5	1490,8	4437,1	2757,1	1611,4	6877,5	4673,2	3412,3	
339,4	459,9	157,1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
268,3	201,2	517,6	2658,4	-----	-----	2413,7	-----	-----	5340,4	-----	-----	
367,1	1830,4	658,3	618,1	1143,2	790,3	3195,1	2071,4	2738,4	4180,8	5045,0	4187,0	
811,3	457,8	445,9	1186,9	1283,7	995,0	3476,9	2475,9	1304,8	5475,1	4217,4	2745,7	
n =	9	9	8	7	7	8	7	7	8	7	7	7
Mittel- wert	326,7	471,5	279,5	1477,0	1395,0	3452,0	3020,0	1708,0	5407,0	4979,0	3366,0	
Stand. Abw.	74,6	195,5	73,4	215,6	124,0	237,8	251,6	191,9	309,7	197,8	192,4	

<u>Tabelle</u>	Nr. 16	Medium : Luft	Temperatur : 6° C
		Zeit : 48 Std.	Perfusion : Fresenius Standard
Gruppe	Nr. 6	Druck : normal	Schichtunterteilung : Rinde / Zwisch. / Mark
		Angaben in nMol/g Trockengewicht	

	A T P			A D P			A M P			Gesamt-A N		
	Rinde	Zwischen- schicht	Mark	Rinde	Zwischen- schicht	Mark	Rinde	Zwischen- schicht	Mark	Rinde	Zwischen- schicht	Mark
	14,2	13,7	46,0	620,3	261,0	501,3	1959,5	987,9	2177,5	2594,0	1262,6	2724,8
	71,0	34,5	52,4	504,6	655,3	317,4	1103,0	1488,0	-----	1678,6	2077,8	-----
	73,0	11,6	22,2	1328,8	574,5	422,5	1312,5	891,5	255,8	2714,3	1477,7	700,5
	14,0	39,6	31,8	1170,2	501,3	473,5	1126,8	986,4	943,6	2311,0	1527,3	1412,6
	56,3	119,3	183,5	676,3	534,1	617,5	1068,5	1295,2	1002,6	1801,1	1948,6	1803,6
	114,7	171,6	45,8	738,6	617,4	764,5	580,8	590,1	631,0	1134,1	1379,1	1423,3
	700,5	368,5	423,3	1521,4	602,7	936,4	447,7	193,4	180,6	2221,9	1166,4	1590,3
	174,5	233,7	280,0	934,2	827,3	742,1	183,2	294,6	200,6	1291,9	1355,6	1222,7
n =	8	8	8	8	8	8	8	8	7	8	8	7
Mittel- wert	152,3	124,1	135,6	936,8	571,7	592,4	972,8	840,9	770,2	1968,0	1524,0	1547,0
Stand. Abw.	80,5	45,1	52,2	129,8	56,4	74,1	197,8	161,0	268,0	206,8	114,5	234,0

Tabelle Nr. 17

Medium : Xenon
Zeit : 48 Std.
Druck : 2 atü

Gruppe Nr. 7

Angaben in nmol/g Trockengewicht

Temperatur : 60°C
Perfusion : Fresenius Standard
Schichtunterteilung : Rinde/Zwisch./Mark

	A T P			A D P			A M P			Gesamt- A N		
	Rinde	Zwischen- schicht	Mark	Rinde	Zwischen- schicht	Mark	Rinde	Zwischen- schicht	Mark	Rinde	Zwischen- schicht	Mark
---	---	-----	---	763,3	363,6	621,0	296,1	-----	250,6	---	-----	---
---	---	229,5	218,7	368,1	847,8	538,1	539,5	557,8	626,4	---	1735,1	1382,3
152,7	209,2	270,6	771,4	448,7	307,4	1686,3	1265,1	1037,9	129,1	2610,4	1923,0	707,1
56,0	58,7	114,6	345,3	472,7	278,6	898,0	1037,9	466,6	954,5	1299,3	1569,3	1348,0
149,4	254,9	207,8	813,7	201,0	668,9	2498,9	466,6	1320,6	992,5	3462,0	922,5	1869,2
237,5	125,7	625,3	513,8	1285,3	765,9	1377,2	1101,8	2656,8	1583,8	2128,5	2731,6	2975,0
---	-----	336,9	1431,2	---	1786,1	6207,9	1834,1	---	1834,1	---	---	3957,1
275,8	404,8	85,4	1893,3	1896,1	2494,9	6207,9	2656,8	4957,7	6832,1	8377,0	4957,7	9412,4
191,4	199,4	473,3	1766,0	553,7	1971,0	6178,0	628,4	4225,7	4225,7	8135,4	1387,5	6670,0
n = 6	7	8	9	8	9	9	9	7	9	6	7	8
Mittel- wert	177,1	211,7	291,6	964,9	771,1	1048,0	2309,0	1133,0	1937,0	4335,0	2174,0	3540,0
Stand. Abw.	31,4	40,9	64,5	192,5	202,3	271,2	764,0	285,1	736,2	1273,0	508,9	1078,0

Tabelle Nr. 18

Gruppe Nr. 8

Medium : Xenon

Zeit : 30 min

Druck : normal

Angaben in nMol/g Trockengewicht

Temperatur : 6° C

Perfusion : Fresenius Standard

Schichtunterteilung : keine

	A T P	A D P	A M P	Gesamt - A N
	845	1940	5110	7895
	1415	2280	5340	9035
	765	1530	4550	6845
	822	1730	4910	7462
	648	1450	4360	6458
	503	1200	3280	4983
	1220	2510	3190	6920
	1160	2740	3910	7810
Mittelwert	922,3	1922,5	4331,3	7176
Stand. Abw.	311,6	544,8	810,0	
n =	8	8	8	8

Tabelle Nr. 19

Gruppe Nr. 9

Medium : Luft
 Zeit : 48 Std
 Druck : 2 atü
 Angaben in nMol/g Trockengewicht

Temperatur : 6° C
 Perfusion : Fresenius Standard
 Schichtunterteilung : keine

	A T P	A D P	A M P	Gesamt - A N
	157	332	198	687
	70	349	230	649
	343	955	2400	3698
	496	1130	2360	3986
	332	1000	1670	3002
	304	810	1500	2614
	247	1170	2060	3477
	423	1110	2130	3663
n =	8	8	8	8
Mittel- wert	296, 5	857, 0	1568, 5	2722, 0
Stand. Abw.	137, 8	338, 6	891, 2	1338, 1

Tabelle Nr. 20

Gruppe Nr. 10

Medium : Luft
Zeit : 48 Std
Druck : 2 atü
Angaben in nMol/g Trockengewicht

Temperatur : 6° C
Perfusion : Fresenius Standard
Schichtunterteilung : Rinde / Mark / Gesamtgew.

A T P			A D P			A M P			Gesamt-A N		
Gesamt	Rinde	Mark	Gesamt	Rinde	Mark	Gesamt	Rinde	Mark	Gesamt	Rinde	Mark
157			332			198			687		
70	56	190	349	260	376	230	103	326	649	419	892
343			955			2400			3698		
496	340	323	1130	910	1090	2360	1830	2600	3986	3080	4013
332			1000			1670			3002		
304	352	485	810	940	1240	1500	1620	1690	2614	2912	3515
247			1170			2060			3477		
423	312	316	1110	1020	895	2130	1800	1460	3663	3132	2617
n =	8	4	8	4	4	8	4	4	8	4	4
Mittelwert	296,5	265,0	857	782,5	900,3	1568,5	1338,3	1519,0	2722	2385,8	2759,3
Stand. Abw.	137,8	140,3	338,6	351,4	377,0	891,2	828,7	935,3	1338,1	1314,5	1372,3

Tabelle Nr. 21 Medium : Xenon Temperatur : 6° C
 Gruppe Nr. 11 Zeit : 48 Std Perfusion : Fresenius Standard
 Druck : 2 atü Schichtunterteilung : keine
 Angaben in nMol/g Trockengewicht

	A T P	A D P	A M P	Gesamt - A N
	92	870	2340	3302
	87	730	2210	3027
	292	940	2810	4042
	342	1040	2880	4262
	390	960	1670	3020
	436	1020	1590	3046
	327	970	1820	3117
	306	835	1780	2921
n =	8	8	8	8
Mittelwert	284,0	920,6	2137,5	3342,1
Stand. Abw.	128,6	103,3	506,6	514,9

Tabelle Nr. 22

Mittelwerte der Adeninnukleotidkonzentrationen aus Rinde, Zwischenschicht und Mark xenonkonservierter Hundenieren
(Gruppe Nr. 4 und 7, s. Tab. Nr. 14 und 17)

	Zeit : 30 min.				Zeit : 48 Std			
	ATP	ADP	AMP	Gesamt-AN	ATP	ADP	AMP	Gesamt-AN
	----	1178	1391	-----	----	582	----	-----
	497	1813	4059	6368	----	624	575	-----
	173	1187	3278	4638	211	509	1027	1747
	184	1206	2330	3720	76	366	936	1405
	425	1448	2435	4308	159	561	1319	2085
	183	1984	4814	6981	329	855	1427	2612
	148	1968	4414	8857	----	----	----	-----
	218	2405	4530	7264	255	2095	5232	7582
					288	1430	3677	5398
Mittelwert	261,1	1648,6	3406,4	6019,4	219,7	877,8	2027,6	3471,5
Stand. Abw.	139,6	460,5	1245,9	1860,6	91,9	590,1	1739,5	2470,3

Anmerkung : Die obigen Mittelwerte wurden errechnet, um beim Medienvergleich (Tab. Nr. 6) Gruppe 4 und 7 mit Gruppe 8 und 11, bei welchen nur Gesamtgewebe untersucht wurde, gemeinsam betrachten zu können.

Mittelwerte der Adeninnukleotidkonzentrationen aus Rinde, Zwischenschicht und Mark nach hypothermer Luftaufbewahrung
(Gruppe Nr. 3 und 6, s. Tab. 13 und 16)

	Zeit : 30 min				Zeit : 48 Std			
	ATP	ADP	AMP	Gesamt-AN	ATP	ADP	AMP	Gesamt-AN
	466	949	1503	2919	25	461	1708	2194
	481	1077	1954	3512	53	492	-----	-----
	---	642	-----	-----	36	775	820	1631
	135	843	1959	2937	28	703	1019	1750
	108	1007	2108	3224	120	609	1122	1851
	1153	2165	1628	4946	111	706	601	1312
	1000	1776	490	3266	497	1020	274	1660
					229	1834	226	1290
Mittelwert	557	1208	1607	3467	137	825	824	1670

Anmerkung : Die obigen Mittelwerte wurden errechnet, um beim Medienvergleich (Tab. Nr. 6) diese Werte mit den Untersuchungen, bei welchen nur Gesamtgewebe bestimmt und keine Schichtunterteilung vorlag, vergleichen zu können.

Mittelwerte der Adeninukleotidkonzentrationen bei Xenonkonservierung aus den beiden Serien mit gleichen Konservierungszeiten (Gruppe Nr. 4/Nr. 8, Gruppe Nr. 7/Nr. 11)

Werte aus Tabelle Nr.	Zeit : 30 min				Zeit : 48 Std				Gesamt- A N	Werte aus Tabelle Nr.
	A T P	A D P	A M P	Gesamt- A N	A T P	A D P	A M P			
18	845	1940	5110	7895	92	870	2340	3302	21	
	1415	2280	5340	9035	87	730	2210	3027		
	765	1530	4550	6845	292	940	2810	4042		
	822	1730	4910	7462	342	1040	2880	4262		
	648	1450	4360	6458	390	960	1670	3020		
	503	1200	3280	4983	436	1020	1590	3046		
	1220	2510	3190	6920	327	970	1820	3117		
	1160	2740	3910	7810	306	835	1780	2921		
Werte aus Tabelle Nr.	497	1178	1391	6368	211	582	575	1747	Werte aus Tabelle Nr.	
22	173	1813	4059	4638	76	624	1027	1405	22	
	184	1187	3278	3720	159	509	963	2085		
	425	1206	2330	4308	329	366	1319	2612		
	183	1448	2435	6981	255	561	1427	7582		
	148	1984	4814	8857	288	855	5232	5398		
	218	1968	4414	7264		2095	3677			
		2405	4530			1430				
Mittelwerte	613,7	1785,6	3868,8	6636,3	256,4	899,2	2088,0	3397,6		
Stand. bw.	416,5	507,4	1121,9	1615,9	115,1	409,8	1193,3	1579,3		

Anmerkung: Die statistische Überprüfung hat ergeben, daß sich die beiden Serien nicht signifikant voneinander unterscheiden, sodaß es zulässig ist, daraus einen gemeinsamen Mittelwert zu bilden.
Lediglich beim ATP 30 min-Wert unterscheiden sich die Serien signifikant, da aber im Vergleich mit der Luftkonservierung für diesen Parameter kein signifikanter Unterschied besteht, ist dieser Befund unerheblich.

X. Literaturverzeichnis

1. ABOTT, W.M. : The Physiology of Renal Preservation Injury.
 I. Freezing Injury and Its Modification.
 Cryobiology 5, 300 - 305 (1969)
2. ABOTT, W.M. and Organ Preservation in Transplantation
 SELL, K.W. : Transpl. Proceedings 1, 781 - 794 (1969)
3. ACKERMAN, J.R.W., Live storage of kidneys: A preliminary
 FISHER, A.J.G. and communication.
 BARNARD, C.N. : Surgery 60: 720, (1966)
4. ALLISON, A.C. : Role of lysosomes in oxygen toxicity. Nature 205:
 141, (1965)
5. BALINT, P. : Normale und pathologische Physiologie der Nieren.
 VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1969
6. BASSO, A. Renal preservation with hyperbaric oxygenation
 CALNE, R.Y. and and hypothermia.
 HOPKINS, W.K. : Brit. J. Urol. 39: 276 (1967)
7. BELZER, F.O. : Current Methods of Kidney Storage
 Cryobiology 5, 444 - 446 (1969)
8. BELZER, F.O., 24-hour and 72-hour preservation of
 ASHBY, B.S. and canine kidneys.
 DUNPHY, J.E. : Lancet 2, 536 - 539 (1967)
9. BELZER, F.O., Isolated Perfusion of Whole Organs.
 ASHBY, B.S., In J.C. NORMAN: Organ Perfusion and
 MAY, R.E. and Preservation.
 DUNPHY, J.E. : Appleton-Century-Crofts New York (1968)
10. BELZER, F.O. Preservation and Transplantation of
 KOUNTZ, S.L. : Human Cadaver Kidneys: A Two-year Experience.
 Ann. Surg. 172, 394 - 403 (1970)
11. BERGMEIER, H.U. : Methoden der enzymatischen Analyse.
 Verlag Chemie, Weinheim (1962)
12. BOGARDUS, G.M. und The influence of temperature upon ischemic renal
 SCHLOSSER, R.J. damage.
 Surgery, 39, 970 (1956)

13. BONTING, S. L. : In J. de GRAEFF and B. Leijuse: Water and Electrolyte Metabolism. Vol. II, Elsevier Pub. Co. Amsterdam (1964)
14. BREITHARDT, G.,
HEROLD, R.,
KNIERIEM, H. J.,
SCHUIER, F. J. and
SIESS, M. : Vergleichende morphologische und funktionelle Untersuchungen am überlebenden Meerschweinchen-vorhof.
37. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kreislaufforschung. Bad Nauheim (1971)
15. COHEN, B. E. and
FOLKMAN, J. J. : Cell Death and the Measurement of Oxygen Consumption in the Isolated Perfused Organ.
In J. C. NORMAN: Organ Perfusion and Preservation
New York, Appleton-Century-Crofts (1968)
16. COUCH, N. P.,
LUCK, R. J.,
TAKAS, F. J.,
HARRISON, H. H. and
MURRAY, J. E. The Protective Effect of Hypothermia in Kidneys transplanted from living Donors.
Surg. Gyn. Obst. 121, 1085 - 1091 (1965)
17. CULLEN, S. C.,
GROSS, E. G. : The Anesthetic Properties of Xenon in Animals and Human Beings, with Additional Observations on Krypton.
Science 113, 580 (1951)
18. DEUTICKE, B. und
GERLACH, E. : Zum Verhalten der Nukleotide und ihrer dephosphorylierten Abbauprodukte in der Niere während und nach der Ischaemie.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 278, 54 (1963)
19. DICKENS, F. : The toxic effects of oxygen on brain metabolism and on tissue enzymes: II. tissue enzymes.
Biochem. J., 40, 171 (1946)
20. DIXON, W. J. : "Introduction to Statistical Analysis"
MASSEY, F. J. : 2nd edition. Mc Graw-Hill, New York, (1957)
21. ELK, P. J. van,
GREEP, J. M.,
WERF, B. A. M. van der: Preservation of the Kidney and Autotransplantation.
Arch. Chir. Neerlandicum 17, 199 - 214 (1966)
22. ERBSLÖH, F.,
BERNSMEIER, A. und
HILLERSHEIM, H. R.: Der Glukoseverbrauch des Gehirns und seine Abhängigkeit von der Leber.
Arch. f. Psychiatr. und Z. Neur. 196, 611 (1958)

23. ERBSLÖH, F.,
KLÄRNER, F. und
BERNSMEIER, A. : Über die Bilanz des cerebralen Zucker-
stoffwechsels.
Klin. Wschr. 36, 849 (1958)
24. EYAL, Z.,
MANAX, W.G.,
BLOCK, J.H. ,
LILLEHEI, R.C. : Successful in vitro preservation of the small
bowel, including maintenance of mucosal inte-
grity with chlorpromazine, hypothermia and
hyperbaric oxygenation.
Surgery 57, 259 (1965)
25. FLECKENSTEIN, A.,
JANKE, J. und
GERLACH, E. : Konzentration und Turnover der energiereichen
Phosphate des Herzens nach Studien mit
Papierchromatographie und Radiophosphor.
Klin. Wschr. 37, 451 (1959)
26. GERLACH, E.,
BADER, W. und
SCHWOERER, W. : Über den Stoffwechsel säurelöslicher Phosphor-
verbindungen in der Rattenniere. Stationäre Kon-
zentrationen in Gesamtniere und Nierenrinde sowie
ihre Veränderungen durch Gewebsentnahme,
Ischaemie und Asphyxie.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 272, 407 (1961)
27. GERLACH, E.,
DEUTICKE, B. und
DREISBACH, R.H. : Zum Verhalten von Nukleotiden und ihrer dephos-
phorylierten Abbauprodukte in der Niere bei
Ischaemie und kurzzeitiger postischaemischer
Wiederdurchblutung.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 242, 691 (1959)
28. GERLACH, E.,
DÖRING, H.J. und
FLECKENSTEIN, A. : Papierchromatische Studien über die Adenin- und
Guanin-Nukleotide sowie anderer säurelöslicher
Phosphorverbindungen des Gehirns bei Narkose,
Ischaemie und in Abhängigkeit von der Technik der
Gewebsentnahme.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 266, 266 (1958)
29. GERLACH, E.,
DREISBACH, R.H. und
DEUTICKE, B. : Entstehung von Nukleosiden, Purinen und Pyrimi-
dinen in der Rattenniere bei Sauerstoffmangel.
Naturwiss. 49, 87 (1962)
30. GOTTSTEIN, U.,
BERNSMEIER, A. und
SEDLMEYER, J. : Der Kohlehydratstoffwechsel des menschlichen
Gehirns.
Klin. Wschr. 41, 943 (1963)
31. HALASZ, N.A.,
SEIFERT, L.A.,
ORLOFF, M.J. : Whole Organ Preservation.
I. Organ perfusion studies.
Surgery 60, 368 - 372 (1966)
32. HASELHOFF, O.W. und
HOFFMANN, J.J. : "Kleines Lehrbuch der Statistik"
Walter de Gruyter & Co., Berlin 1965

33. HAUGAARD, N. : Oxygen poisoning: XI. Relation of inactivation of enzymes by oxygen and essential sulphhydryl groups.
J. Biol.Chem. 164 : 265 (1946)

34. HENDRY, F.,
STRUTHERS, N.W.,
DUGUID, W.P. : Observations on kidneys stored by continous hypothermic perfusion and hyperbaric oxygen.
Brit. J. Surg. 55, 431 - 436 (1968)

35. HENDRY, W.F.,
STRUTHERS, N.W.,
DUGUID, W.P.,
HOPKINSON, W.I. : Twenty-Four-Hour Storage of Kidneys.
Lancet 1221 - 1225 (1968)

36. HEROLD, R. : Der isolierte spontanschlagende Meerschweinchenherzvorhof als Testobjekt zur Prüfung von hypothermen und hyperbaren Konservierungsverfahren in verschiedenen Gasgemischen.
Inaugural-Dissertation, Marburg 1971

37. HERRMANN, T.H. and
TURCOTTE, J.G. : Preservation of Canine Kidneys.
Arch.Surg. 98, 121 - 127 (1969)

38. HITCHCOCK, C.R.,
HAGLIN, J.J.,
TELANDER, R.L.,
SIMSO, L.A. : Hyperbaric Oxygenation in Surgery.
Arch.Surg. 91 , 307 - 313 (1965)

39. HOHORST, H.J.,
KREUTZ, F.H. und
BÜCHER, TH. : Über Metabolitgehalte und Metablitkonzentrationen in der Leber der Ratte.
Biochem. Z. 332, 18 (1955)

40. HUMPHRIES, A. L. : Organ Preservation: A Review.
Transplantation 5, 1138 - 1153 (1967)

41. HUMPHRIES, A.L. : Problems with various Perfusates for Kidney Preservation. Cryobiol. 5, 447 - 453 (1969)

42. HUMPHRIES, A.L.,
RUSSEL, R.,
STODDARD, L.D. and
MORETZ, W. : Three-day kidney preservation: Perfusion of kidneys with hypothermic, diluted blood or plasma.
Surgery 63, 646 - 652 (1968)

43. HUMPHRIES, A.L.,
RUSSEL, R.,
STODDARD, L.D.,
MORETZ, W. : Successful Five-Day Kidney Preservation.
Perfusion with Hypothermic, Diluted Plasma.
Invest. Urology 5, 609 - 618 (1968)

44. HUMPHRIES, A.L.,
RUSSEL, R.,
STODDARD, L.D. and
MORETZ, W.H. :
Perfusion of Dog Kidneys with Cooled Medium 199
Followed by Auto or Allotransplantation.
In J.C. NORMAN: Organ Perfusion and Preser-
vation.
New York, Appleton-Century-Crofts (1968)
45. ISSELHARD, W.,
IRMSCHER, K. und
THORN, W. :
Die Relation von anorganischen Phosphat, Phospho-
kreatin, freiem und Gesamtkreatin in Warmblüter-
organen bei verschiedener Belastung.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 268, 415 (1959)
46. JACOB, S.W.,
OWEN, O.E.,
COLLIN, S.C.,
DUNPHY, J.E. :
Cryobiology.
Surg. Forum 9, 802 (1958)
47. KABOTH, U. :
Funktionelle und morphologische Untersuchungen an
der ischaemisch geschädigten Rattenniere. Inaugu-
ral-Dissertation Würzburg 1962
48. KAHLE, W. :
Zit. in FRESENIUS - JANDER: Handbuch der
analytischen Chemie Bd. III, Quantitative Analyse,
Heft VIII a Elemente der achten Hauptgruppe
(Edelgase).
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
(1949)
49. KIIL, F. :
Blood Flow and Oxygen Utilisation by the Kidney.
In J.W. FISHER: Kidney Hormones.
Academic Press London and New York (1971)
50. KISER, J.C.,
TELANDER, R.L.,
PETERSON, T.A.,
COE, J.E. and
HITCHCOCK, C.R. :
Canine Renal Autografts.
Arch. Surg. 83, 502 - 511 (1961)
51. KUNZ, W.,
SCHMID, W. und
SIESS, M. :
Die Bestimmung von Adeninnukleotiden und
Hexosephosphateestern in Gewebsextrakten.
Z. Ges. exper. Med. 130, 328 (1958)
52. LADAGA, L.G.,
GAULT, M.H.,
SHELDON, H.,
MAC LEAN, L.D. :
Preservation of the Dog Kidney.
J. Surg. Research 8, 495 - 509 (1968)

53. LADAGA, L.C.,
KOO, G.C.,
MAC LEAN, L.D. : Preservation of the kidney in the
dog.
Surg. Forum 16, 337 (1965)
54. LAPCHINSKY, A.G. : Recent results of experimental transplantation
of preserved limbs and kidneys and possible use
of this technique in clinical practice.
Ann. N.Y. Acad. of Sciences, 87,
539 - 572 (1960)
55. LARGIADER, F. : Organtransplantationen.
Thieme-Verlag, Stuttgart (1966)
56. LARGIADER, F.,
MANAX, W.G.,
LYONS, G.W. and
LILLEHEI, R.G. : In Vitro Preservation of Canine Heart and Lung.
Arch. Surg., 91, 801 - 804 (1965)
57. LAVENDER, A.R.,
BERNDT, A.A.,
STUPKA, J.J. : Extracorporal renal transplantation.
Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs 12,
246 (1966)
58. LEE, J.B. and
PETER, H.M. : Effect of oxygen tension on glucose metabolism
in rabbit kidney cortex and medulla.
Amer. J. Phys. 217, 1464 - 1471 (1969)
59. LEHR, H.B.,
BERGGREN, R.B. and
LOTKE, P. : Permanent survival of preserved skin
autografts.
Surgery 60, 77 (1966)
60. LEMPert, N.,
BLUMENSTOCK, D.A.,
CARTER, R.D. : Hyperbaric hypothermic preservation of the
dog kidney with and without immediate contralateral
nephrectomy.
Surg. Forum 16: 196 (1965)
61. LEVY, M.N. : Oxygen Consumption and blood flow in the
hypothermic perfused kidney.
Amer. J. Physiol. 197: 1111 (1959)
62. LYONS, G.W.,
DIETZMANN, R.H. and
LILLEHEI, R.C. : On the Mechanism of Preservation with Hypother-
mia and Hyperbaric Oxygen.
Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs Vol. XII,
236 - 238 (1966)

63. MANAX, W.G. Hypothermia and Hyperbaria.
BLOCK, J.H., J. Amer. Med. Ass. 192, 755 - 759 (1965)
EYAL, Z.,
LYONS, G.W.,
LILLEHEI, R.C.:
64. MANAX, W.G. Organ perfusion before Transplantation with
BLOCH, J.H., particular reference to the kidney.
LARGIADER, F., Surgery 57, 528 - 534 (1965)
LYONS, G.W.,
EYAL, Z.,
LILLEHEI, R.C.:
65. MANAX, W.G., Successful 24 hour in vitro preservation of
BLOCK, J.J., canine kidney by the combined use of hyperbaric
LONGEBEAM, J.K., oxygenation and hypothermia.
LILLEHEI, R.C.: Surgery 56, 275 (1964)
66. MAZUR, P. : Physical and temporal factors involved in the
death of yeast at sub-zero temperatures.
Biophys. J. 1, 247 (1961)
67. MAZUR, P. : Manifestations of injury in yeast cells exposed to
subzero temperatures. I. Morphological changes
in freeze-substituted and in "frozen-thawed" cell.
J. Bact. 82, 662 (1961)
68. MORRIS, L.E., Electro-Encephalographie and Blood Gas Observations
KNOTT, J.R., in Human Surgical Patients During Xenon Anesthesia.
PITTINGER, C.B.: Anesthesiology 16, 312 (1955)
69. MURRAY, G.F., The Effect of Hypothermia and Perfusion upon
SANTILLANA, M., Respiration and Glycolysis of Canine Kidney
SCHIRMER, H.K.A., Homografts.
BALLINGER, W.F.: J. Surg. Res. 6, 465 - 467 (1966)
70. NABSETH, D.C., Organ preservation.
DETERLING, R.A.: Bull.Soc. Int. Chir. 5, 444 - 456 (1967)
71. OPITZ, E. : Der Zellstoffwechsel in seiner Beziehung zur Zell-
struktur.
Verh. dtsch. Ges. Path. 33, 18 (1949)
72. PEGG, D.E. : Canine renal preservation using surface and
et al. perfusion cooling techniques.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 120: 506 (1964)

73. PERRY, V.P. et al. : The freezing of human kidney cell suspensions. Cryobiology 1: 274 (1965)
74. PFANZAGL, J. : "Allgemeine Methodenlehre der Statistik II" Sammlung Götschen, Berlin 1966
75. POPPERT, D. , Unveröffentlichte Befunde.
BRAUN, R.,
VOSS, R. und
RUILE, K. :
76. RAPAPORT, F. and Human Transplantation.
DAUSSET, J. : Grunde & Stratton. New York and London (1968)
77. REID, C., Zit. b. A.L. HUMPHRIES.
KOSSA, J. : Arch. Biochem. 53, 321 (1954)
78. REINHARDT, H.W., Ein Nierenpräparat (sog. Halsniere) zur
KLOSE, H.J., Erleichterung komplizierter Funktions-
ELLINGHAUS, K., untersuchungen.
BRECHTELSBAUER, H: Pflügers Arch. 297, 71 - 88 (1967)
BEHRENBECK, D.W.:
79. RENNER, E. und "Mathematisch-Statistische Methoden in
PAREY, P. : der praktischen Anwendung".
Berlin und Hamburg (1970)
80. RICKART, A. : Metabolitkonzentrationen in perfundierten
Kaninchennieren bei normo- und hyperbarer Organ-
konservierung.
Inaugural-Dissertation. Gießen (1969)
81. ROTTER, W., Pathogenese und morphologisches Substrat des
LAPP, H., "akuten Nierenversagens" und seine Erholungs-
ZIMMERMANN, H. : zeit.
Dtsch. med. Wschr. 87, 669 (1962)
82. RUDOLF, L.E., Organ Preservation Using Extracorporeal Per-
COYNE, J.A. : fusion.
The Amer. Surgeon 34, 723 - 728 (1968)
83. RUDOLF, L.E. and Supercooling, Intermittent Perfusion, And High
MANDEL, S. : Pressure Oxygen in Whole Organ Preservation.
Transplantation 5, 1159 - 1166 (1967)

84. RUILE, K.,
RICKART, A.,
BRAUN, R. und
VOSS, R. : Hyperbaric Kidney Preservation
with Gaseous Media.
Transpl. Proc. Vol. III,
619 - 622 (1971)
85. RUILE, K. und
VOSS, R. : Experimentelle Untersuchungen zur homologen
Nierentransplantation ohne Immunsuppression.
Verh. dtsch. Ges. Urol 22, 204 - 208 (1969)
86. SCHIMMEL, H.,
WAJCNER, G.,
CHATELAIN, C.,
LEGRAIN, M. : Freezing of whole rat and dog kidney by per-
fusion of liquid nitrogen through the renal
artery.
Cryobiology 1, 171 (1964)
87. SCHOEN, H.R.,
VOSS, R.,
BETTGE, S. und
BECKER, W.H. : Experimentelle Untersuchungen über den
Einfluss der Asphyxie auf das Verhalten der
energiereichen Phosphate in Herzmuskel und
Gehirn.
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 301, 660 (1962)
88. SCHOEN, H.R.,
VOSS, R.,
RUILE, K. und
WILDBERGER, J.E. : Tierexperimentelle Stoffwechseluntersuchungen
der Niere und ihre Bedeutung für die Trans-
plantation.
Zentralb. Chir. 92, 22 (1967)
89. SCHMIDT-MENDE, M. : Der Energiestoffwechsel der kältekonservierten
Niere.
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 316, 894 (1966)
90. SELL, K.W. and
ABBOTT, W.M. : Organ preservation. In: Current Problems
in Urologic Investigation, I. Bush, (ed.).
Baltimore, Williams and Wilkins Co. (1970)
91. SELL, K.W.,
ABBOTT, W.M. and
DUPREE, E.L. : The Role of Preservation in Transplantation.
Organtransplantation. Immunologie und
Klinik.
303 - 313 (1969)
F.K. Schattauer-Verlag. Stuttgart - New York.
92. SHERMAN, J.K. : Zit. bei A.L. HUMPHRIES.
Cryobiology 1, 103 (1964)
93. SIESS, M. : Untersuchungen zur Beeinflussung des Energie-
stoffwechsels am erschöpften Herzvorhofpräparat.
Verh. Dtsch. Kreislaufforsch. 27, 259 (1961)

94. STEVENS, L.E.,
IVERSON, M. and
REEMTSMA, K. : The Preservation of Kidneys by in
vitro Perfusion.
Arch. Surg. 96, 540 - 544 (1968)
95. STEVENS, L.E.,
SWENSON, F.C. and
FREEMAN, J.S. : Preservation of Kidneys in Vitro.
Amer. J. Surg. 112, 728 - 732 (1966)
96. THAUER, R. und
BRENDL, W. : Hypothermie.
Prog. Surg. 2, 73 , Basel - New York (1962)
97. THOENES, W. : Mikromorphologie des Nephron nach temporärer
Ischaemie. Zwanglose Abhandlungen aus dem
Gebiet der normalen und pathologischen Anatomie.
Heft 15
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1964)
98. THORN, W. : Dynamik des Zellgeschehens und Ursachen für
den Gewebsuntergang im Sauerstoffmangel.
Dtsch. med. Wschr. 85, 74 - 78 (1960)
99. THORN, W. und
BUSCH, E.W. : RNS- und Metabolitgehalte in Warmblüteror-
ganen nach unterschiedlicher acuter und
chronischer Belastung.
Biochem. Z. 339, 112 (1963)
100. THORN, W.,
JACOBS, G.,
LAPP, H. und
WICHERT, P. v. : Metabolische und histologische Untersuchungen in
Nieren nach 2 und 3 Stunden und Wiederdurch-
blutungszeiten bis zu 20 Tagen.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 273, 258 (1961)
101. THORN, W. und
LIEMANN, F. : Metabolitkonzentrationen in der Niere und
Paraaminohippursäureclearance nach acuter
Ischaemie und in der Erholung nach Ischaemie.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 273, 258 (1961)
102. ULLRICH, K.J. und
PEHLING, G. : Über das Vorkommen von Phosphorverbindungen
in verschiedenen Nierenabschnitten und Änderungen
ihrer Konzentrationen in Abhängigkeit vom
Diuresezustand.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 267, 551 (1956)
103. VAHLENSIECK, W.,
GÖDDE, ST.,
PAQUET, K.J.,
SIEDECK, M.,
CERNY, J. und
ALBRECHT, D. : Konservierung von Organtransplantaten.
Wiederbel. und Organersatz 4, 62 - 67 (1967)

104. VAHLENSIECK, W.,
GÖDDE, ST.,
SIEDECK, M.,
PAQUET, K.J.,
ALBRECHT, D.,
FRITZ, K.W.,
WILBRANDT, R.,
NEUHAUS, G. und
VORLAENDER, O. :
Organkonservierung, Operationstechnik
und Immunsuppression bei Nieren-
transplantationen.
Dtsch. med. Wschr. 93, 675 - 679 (1968)
105. VAHLENSIECK, W.,
WÜLFING, D. und
KOCH, W. :
Probleme der Nierentransplantation.
Bruns Beitr. klin. Chir. 208, 32 - 56 (1964)
106. VOSS, R. :
Experimentelle Untersuchung des Stoff-
wechsels der ischaemischen Niere und seine
Bedeutung für die Nierentransplantation.
Habilitationsschrift. Gießen (1969)
107. VOSS, R. :
Komplikationen nach Nierentransplantationen.
Verhdl. Ber. Dtsch. Ges. f. Urologie 23 (1971)
in Druck
108. VOSS, R.,
RICKART, A.,
RUILE, K.,
SCHOEN, H.R. und
KUNZ, W. :
Beitrag zur hyperbaren Organkonservierung.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 54, 145 - 150
(1970)
109. VOSS, R.,
RICKART, A.,
RUILE, K.,
VOGELL, W. :
Hyperbare Organkonservierung.
4-th Congress of the European Society for
Experimental
Surgery, Davos (1969)
110. VOSS, R.,
RICKART, A.,
RUILE, K. und
VOGELL, W. :
Renal preservation and immunological
reaction of stored kidneys.
Joint Meeting Surg. Res. Soc. London (1969)
111. VOSS, R.,
RICKART, A.,
RUILE, K.,
VOGELL, W.,
KUNZ, W. :
Zellvitalität nach hyperbarer Xenon-Konser-
vierung von Kaninchennieren über einen
Zeitraum von 8 Tagen bei 2⁰ C.
Klin. Wschr. 48, 172 - 174 (1970)
112. VOSS, R. und
RUILE, K. :
Biochemische und morphologische Unter-
suchungen zur Ischaemietoleranzzeit der
Nieren.
Verhdl. Ber. Dtsch. Ges. f. Urologie 22,
235 - 239 (1969)

113. VOSS, R.,
RUILE, K.,
BRAUN, R. : Neue Aspekte bei Nierenkonservierung.
Verhdl. Ber. Dtsch. Ges. f. Urologie 23,
(1971) in Druck

114. VOSS, R.,
RUILE, K.,
VOGELL, W. und
KUNZ, W. : Untersuchungen zur Ischaemietoleranz-
zeit der Nieren.
Klin. Wschr. 48, 1089 - 1096 (1970)

115. VOSS, R.,
SCHOEN, H.R. und
RUILE, K. : Stoffwechselverhalten der Niere während
der Ischaemie. Folgerungen für die Organ-
konservierung.
Z. ges. exp. Med. 143, 255 - 260 (1967)

116. VOSS, R.,
SCHOEN, H.R.,
RUILE, K. und
VOGELL, W. : Elektronenmikroskopische Befunde an der
ischaemischen Niere und ihre Bedeutung für
die Organtransplantation.
Langenbecks Arch. f. Klin. Chir. 322,
1129 (1968)

117. VOSS, R.,
SCHOEN, H.R.,
RUILE, K. und
VOGELL, W. : Beeinflußt der Stoffwechsel der Transplantate
den Beginn und das Ausmaß der immunbiologischen
Reaktionen ?
Organtransplantation. Immunologie und Klinik
149 - 155 (1969)
F.K. Schattauer-Verlag Stuttgart - New York

118. VOSS, R.,
SCHOEN, H.R.,
RUILE, K. und
WILDBERGER, J.E. : Tierexperimentelle Untersuchungen zur
homologen Nierentransplantation ohne
Immunosuppression.
Langenbecks Arch. klin. Chir. 317,
266 - 287 (1967)

119. WATKINS, G.M.,
PRENTISS, N.A. and
COUCH, N.P. : Successful 24-Hour Kidney Preservation with
Simplified Hyperosmolar Hyperkalemic Perfusate.
Transpl. Proc. Vol III, 612 - 615 (1971)

120. WEBB, W.R.,
WAX, S.D.,
JONES, F.X.,
KAMIYAMA, T. ,
SUGG, W.L. an
ECKER, R.R. : Metabolic Inhibitors in Preservation.
In J.C. NORMAN: Organ Perfusion and Preser-
vation.
Appleton-Century-Crofts New York (1968)

121. WEBER, H.W. : Diskussionsbemerkung.
Dtsch. Kongress f. Pathologie, Berlin (1970)

122. WEISSMAN, G. : Labilization and stabilization of lysosomes.
Fed. Proc. 23, 1038 (1964)
123. WELT, L.G. : Experimental magnesium depletion.
YALE J. Biol. Med. 36: 325 (1964)
124. WESSEL, W.,
VAHLENSIECK, W.,
KOZUSZEK, W.,
PAQUET, K.J.,
GÖDDE, ST. : Mikroskopische Befunde nach verschie-
denen Konservierungsverfahren der Niere.
Urol. int. 22, 258 (1967)
125. WHITE, A.,
HANDLER, P. and
SMITH, E.L. : Principles of Biochemistry.
New York, McGraw-Hill (1964)
126. WOLLENBERGER, A.,
RISTAU, O. und
SCHOFFA, G. : Eine einfache Technik der extrem schnellen
Abkühlung größerer Gewebsstücke.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 270, 399 (1960)
127. ZYL, J.J.W. van,
KLERK, J.N. de,
MURPHY, G.P.
ZYL, J.A. : A new hyperbaric hypothermic kidney preser-
vation unit.
Invest. Urolog. 6, 89 - 93 (1968)
128. ZYL, J.J.W. van,
ZYL, J.A. van,
LOCHNER, A.,
WARD, M.J.,
JOHNSON, G.S.,
RETIEF, C.P.,
MURPHY, G.P. : Renal function and metabolism of isolated
baboon kidneys following prolonged bloodless
hypothermic, hyperbaric storage with helium
and oxygen.
Ann. Surg. 168, No 1, 95 - 109 (1968)

Nachtrag zum Literaturverzeichnis

129. BRETSCHNEIDER, H. J. : Überlebenszeit und Wiederbelebenszeit des
Herzens bei Normo- und Hypothermie.
Verh. dtsch. Ges. Kreisl.-Forschung 30,
11 (1964)
130. CREE, J. C. : Med. World News 7, 9 (1966), zit. bei A. L.
Humphries (Transplantation 5, 1967)
131. RUILE, K. Cryoprotective Properties of Various Gases
POPPERT, D. in Kidney preservation.
BRAUN, R. Vortrag am 7th Congress of the European
HUTH, F. Society f. Experimental Surgery in
VOSS, R. : Amsterdam 1972
132. VOSS, R. Experimentelle Untersuchungen zur Gefrier-
BRAUN, R. konservierung von Nieren mit Edelgasen.
HUTH, F. Vortrag am Congrès international de
JAKS, D. Cryochirurgie in Wien 1972
KRAUSHAAR, J.
KURZ, H.
POPPERT, D.
RUILE, K. :

Herrn Professor Dr. R. Voss danke ich sehr herzlich für die Anregungen, Ratschläge und kritischen Hinweise, mit welchen er die Durchführung meiner Untersuchungen förderte und unterstützte.

Herrn Professor Dr. C. F. Rothauge bin ich für sein ständiges Interesse, das er meinen Experimenten entgegenbrachte und für die Unterstützung, die er mir jederzeit zuteil werden ließ, zu besonderem Dank verpflichtet.

Mein Dank gilt ebenfalls Herrn Dr. R. Braun und den Assistenten der Urologischen Abteilung, die mir bei der Durchführung der Nierentransplantationen behilflich waren.

Die Ausführung der histologischen Untersuchungen sowie Anregungen zur Interpretation der histologischen Befunde verdanke ich Herrn Professor Dr. Huth, Pathologisches Institut der Universität Düsseldorf.

Herrn Professor Dr. R. Repges, Universität Aachen, bin ich für die Beratung und Unterstützung bei der statistischen Berechnung der Versuchsergebnisse, die am Rechenzentrum der Universität Gießen durchgeführt wurde, ebenso dankbar, wie Herrn Dipl. Psych. H. Carl vom Institut für Medizinische Statistik Gießen.

Herr Professor Dr. W. Kunz ermöglichte es mir in großzügiger Weise, die biochemischen Untersuchungen am Pharmakologischen Institut der Universität Marburg vorzunehmen. Für seine Anleitung und seine kritischen Hinweise zur Methodik und zur Interpretation der Ergebnisse bin ich ihm sehr zu Dank verpflichtet.

Die Durchführung der experimentellen Untersuchungen wurde durch großzügige Sachhilfen der pharmazeutischen Industrie ermöglicht und durch ein Habilitandenstipendium der Deutschen Forschungsgemeinschaft wesentlich gefördert.

Chemoprint-Druck 63 Gießen Frankfurter Str. 131 Ruf (06 41) 2 17 12